บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการผลิตสุกร ในแต่ละปีมีการผลิตสุกรได้ประมาณ 10 ล้านตัว โดยแหล่งที่เลี้ยงสุกรหลักของประเทศอยู่ในเขตภาคกลางและภาคตะวันออก แถบราชบุรี นครปฐม ฉะเชิงเทรา และชลบุรี การผลิตสุกรส่วนใหญ่เป็นการผลิตเพื่อบริโภคภายในประเทศ (ประมาณ 98-99%) การส่งออกยังมีน้อยมาก และจำกัดอยู่ในแถบเอเชีย เช่น ฮ่องกง ทั้งที่ยังมีประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญอีกหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น รัสเซีย และสิงคโปร์ ดังนั้นจึงมีการส่งเสริมการเลี้ยงสุกรเป็นอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นเพื่อรองรับตลาดโลก แต่การผลิตสุกรแรกเกิดให้ได้จำนวนมาก (ลูกดก) และเหลือเมื่อหย่านมในอัตราสูง ซึ่งอย่างน้อยต้องได้ลูกหย่านมโดยเฉลี่ยแม่ละ 22 ตัวต่อปีขึ้นไป จึงจะทำให้กิจการฟาร์มอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน สามารถดำเนินกิจการไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่การเลี้ยงสุกรเพื่อผลิตลูกให้ได้ในอัตราดังกล่าว กระทำได้ไม่ง่ายนัก เพราะมีปัญหามากมายที่ขัดขวางกระบวนการผลิตจนไม่สามารถบรรลุเป้าหมายที่วางไว้

ปัญหาและอุปสรรคที่สำคัญประการหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตไม่บรรลุเป้าหมายได้แก่ โรคท้องร่วงในลูกสุกรตั้งแต่แรกเกิดจนกระทั่งหย่านมที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Escherichia coli* โดยเฉพาะในฟาร์มที่ผลิตและจำหน่ายลูกสุกร เนื่องจากสุกรขนาดเล็กมีโอกาสเป็นโรคง่ายกว่าสุกรขนาดใหญ่ เพราะความต้านทานต่อการติดเชื้อต่ำ ระบบการย่อยและการดูดซึมอาหารยังทำงานไม่ได้เต็มที่ โรคท้องเสียบางชนิดแม้มีอัตราการตายไม่สูงนัก แต่ความสำคัญทางเศรษฐกิจนั้นมีมาก ทั้งนี้เพราะสุกรป่วยจะซูบผอม แคระแกร็น อัตราการเจริญเติบโตลดลง และบางตัวอาจถึงตายได้ ทำให้ผู้เลี้ยงสิ้นเปลืองค่าอาหาร เวชภัณฑ์ แรงงาน และค่าใช้จ่ายอื่น ๆ เพิ่มขึ้นทำให้ต้นทุนการผลิตลูกสุกรหย่านมสูงขึ้น (ถวัลย์, 2536)

การเลี้ยงสัตว์ที่ต้องเร่งผลผลิตในพื้นที่ที่จำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทยที่เป็นประเทศในเขตร้อนมีการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อสูง ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการป้องกัน (subtherapeutic) และการรักษา (therapeutic) มีมากขึ้น นอกจากนี้ยังได้นำยาปฏิชีวนะมาเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในอาหารสัตว์ (antibiotic growth promotor, AGP) มานานกว่า 50 ปีแล้ว และการผลิตสุกรของประเทศไทยในปี 2543 มีถึง 10 ล้านตัว จึงมีการ

นำเข้าของผลิตภัณฑ์ AGP เป็นมูลค่า 796 ล้านบาท (รายงานประจำปี 2543 สมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์แห่งประเทศไทย) ซึ่งเห็นได้ว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นปริมาณมากในประเทศไทย

ในช่วงที่ผ่านมามีการมุ่งเน้นการใช้ยาปฏิชีวนะกันมากจนกระทั่งละเลยการเอาใจใส่แก้ไข สภาพการจัดการควบคู่กันไป หรือการใช้ยาไม่ถูกวิธีในการใช้ยาเสริมในอาหารเป็นปริมาณที่มากและระยะเวลานานตั้งแต่สุกรเล็กจนกระทั่งถึงสุกรขุน ก่อให้เกิดเชื้อโรคดื้อยา ยาที่ใช้เริ่มไม่ได้ผลอีกต่อไป ต้องมีการเปลี่ยนชนิดยาปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นการเพิ่มภาระต้นทุนแก่เกษตรกรแก่ผู้เลี้ยง (ธนาคาร และคณะ, 2545)

นอกจากปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นแล้ว ยังพบปัญหาของสารเคมีและยาที่นำมาใช้เป็น AGP ตกค้าง เช่น chloramphenicol ที่ตกค้างในร่างกายนานและทำให้เกิดเป็นโรคโลหิตจาง สารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ที่มีผลต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ สารเคมีสังเคราะห์ที่มีแนวโน้มก่อโรคมะเร็ง ได้แก่ กลุ่มยา nitrofuran (สำนักงานกรรมการอาหารและยา, 2545) การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์จึงเริ่มเป็นที่รังเกียจและต้องห้ามในหลายประเทศโดยเฉพาะประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศแถบยุโรปที่เริ่มมีการตื่นตัวตั้งแต่ปี 1998 โดยลดการเติมสารที่เป็น AGP ในอาหารสุกรน้ำหนัก 35 กก.ขึ้นไป และปี 2000 ได้ลดยาปฏิชีวนะและสารเคมีสังเคราะห์ลงเพื่อผลิตเนื้อสุกรปลอดภัย ภายในปี 2006 จะยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะทั้งหมดโดยเด็ดขาด (Anonymous, 2000) ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์กลายเป็นประเด็นทางการค้าที่ประเทศคู่ค้าจำต้องปฏิบัติตามในการถอนยาต้องห้ามทั้งหมด และประเทศไทยในฐานะประเทศที่มีการส่งออกของผลิตภัณฑ์เกษตรเป็นอันดับต้นของโลก จำเป็นที่จะต้องปรับปรุงแก้ไขระบบการผลิต เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้าและผลิตเนื้อสัตว์ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ผู้ผลิตจะต้องผลิตสัตว์เพื่อการบริโภคโดยใช้ยาปฏิชีวนะกระตุ้นการเจริญเติบโต (AGP) ให้น้อยที่สุด ในการใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงสุกรเล็กซึ่งถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของวงจรการผลิต และมีปัญหาด้านสุขภาพมากที่สุดที่อาจส่งผลระยะยาวถึงสุกรขุนได้

การนำจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกมาใช้เสริมในอาหารสัตว์ เพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงและเพิ่มภูมิต้านทานแก่สัตว์ จึงเป็นแนวทางที่มีผู้สนใจศึกษากันมาก โปรไบโอติก (probiotic) คือจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (host) มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ มีสมบัติในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ สามารถผลิตกรดแลคติกและสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นได้ อีกทั้งยังทำให้เกิดสมดุลในระบบการย่อยอาหาร การขับถ่าย ช่วยในการพัฒนาสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ให้ดีขึ้น (Kontula *et al.*, 1998) จุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกจะต้องมีความปลอดภัย (GRAS = Generally Recognized As Safe) ต่อสัตว์ และต้องแสดงให้เห็นผลดีกว่าไม่

เติมโปรไบโอติกชัดเจน (วิเชียร, 2541ก) สำหรับประเทศไทยได้มีการประกาศใช้โปรไบโอติกไว้ในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยใช้ชื่อเรียกว่า สารเสริมชีวนะ (ศรีสุข , 2540) การที่ประเทศไทยประกาศใช้สารเสริมชีวนะ หรือโปรไบโอติกในอาหารสัตว์ ทำให้ต่างประเทศมั่นใจในคุณภาพเนื้อสัตว์ที่ส่งออกมากขึ้น (วิเชียร, 2541ข)

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายในการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกจากมูลสุกรที่มีคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติก และมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ β – hemolytic *E. coli* สาเหตุโรคท้องร่วงในลูกสุกร เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพแก่สุกร

ตรวจเอกสาร

1. นิยามโปรไบโอติก

คำว่า โปรไบโอติก (probiotic) มาจากภาษากรีก แปลว่า "เพื่อชีวิต" ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงกันข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด นอกจากนี้ยังมีผู้ให้ความหมาย ขอบเขต และประเภทของโปรไบโอติกเพิ่มเติมไว้ดังนี้

ในปี พ.ศ. 2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โปรไบโอติก คือกลุ่มของจุลินทรีย์หรือสสารซึ่งสามารถปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร ในความหมายนี้รวมถึงจุลินทรีย์ประจำถิ่น (microflora) ในทางเดินอาหาร และยาปฏิชีวนะด้วย

Fuller (1989) ได้ให้คำจำกัดความที่เหมาะสมของโปรไบโอติกว่า อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และสามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต คำจำกัดความใหม่ที่ปรับปรุงขึ้นมานี้ จะเน้นความสำคัญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตว่า เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ และยังช่วยขจัดความสับสนที่เกิดจากการใช้คำว่าสสารอีกด้วย (Stavric and Komegay, 1995)

ต่อมา Males และ Johnson (1990) ได้ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่าเป็นการสนับสนุนส่งเสริมสิ่งมีชีวิต พร้อมทั้งชี้ให้เห็นประโยชน์จากการใช้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์ว่ามีจุดประสงค์ 3 ประการคือ เพื่อถนอมอาหาร เพื่อปรับสภาพความสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารสัตว์ที่เกิดความเครียด และเพื่อการนำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้

Havenaar และคณะ (1992) ได้กล่าวว่าอาจจะใช้โปรไบโอติกในรูปเซลล์เพาะเลี้ยงบริสุทธิ์สายพันธุ์เดียวหรือเชื้อผสม และให้ประโยชน์แก่มนุษย์และสัตว์ที่ได้รับโปรไบโอติกโดยช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหาร

นอกจากนี้ยังมีการให้ความหมายของโปรไบโอติก ว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดจำเพาะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ (โดยเฉพาะ *Lactobacillus* spp.) แล้วเสริมในอาหารสัตว์ มีผลทำให้มีการเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ และลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษ (Crawford, 1979; Reddy, 1984)

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา หรือ FDA (The United States Food and Drug Administration) ได้เปลี่ยนให้ใช้คำว่า DFM (Direct-Fed Microbial) แทนคำว่า probiotics และได้ให้ความหมายว่า เป็นแหล่งของจุลินทรีย์มีชีวิตที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ (Stavric and Komegay, 1995) นอกจากนี้ FDA และ AAFCO (The Association of American Feed Control Official) ได้จัดให้จุลินทรีย์ DFM เป็น generally recognized as safe (GRAS) ingredients ซึ่งเป็นสารที่เติมลงไปในอาหารมนุษย์และสัตว์ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคโดยผ่านการพิจารณาจากเภสัชกร และนักพิษวิทยาแล้ว (Pollman, 1986)

ในประเทศแคนาดาให้ใช้ในความหมายของจุลินทรีย์มีชีวิต ซึ่งมีการปรับปรุงโปรไบโอติกสำหรับใช้กับสัตว์ในฟาร์ม ภายใต้การควบคุมของหน่วยงาน AC (The Deparment of Agriculture and Health) (Stavric and Komegay, 1995)

EC-FLAIR (The European Community-Food Linked Agro Industrial Research group) รายงานในปี 1993 ว่าได้ใช้คำว่า EHCP (Ecological Health Control Product) แทน probiotics อย่างไรก็ตามคำจำกัดความที่ตั้งขึ้นมาใหม่นี้ ไม่เป็นที่น่าสนใจ และคำว่า probiotics ก็ยังคงใช้กันอยู่ทั่วไปสำหรับใช้เรียกผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิต (Stavric and Komegay, 1995)

2. จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติก

สารเสริมชีวนะหรือโปรไบโอติกก่อให้เกิดประโยชน์กับสัตว์หลายด้าน แต่การใช้โปรไบโอติกจะต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยมีระดับการใช้ในอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปไม่น้อยกว่า 1×10^5 CFU (colony forming unit) ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม จุลินทรีย์ที่กำหนดให้ใช้เป็นโปรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 มีดังนี้

2.1 แบคทีเรีย

Bacillus coagulans, B. lentus, B. licheniformis, B. pumilus, B. subtilis strain BN, *B. subtilis* (สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารปฏิชีวนะ), *B. toyoi, Bacteroides amylophilus, Bacteroides ruminicola, Bacteroides suis, Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium animalis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, L. cellobiosus, L. curvatus, L. delbrucekii, L. fermentum, L. helveticus, L. lactis, L. plantarum, L. reuteri, Leuconostoc mesenteroides, Pediococcus acidolactici, P. cerevisiae, P. pentosaceus, Propionibacterium*

shermanii, Lactococcus cremoris, L. diacetylactis, Enterococcus faecium, Streptococcus faecium cermelle 68, *S. intermedius, S. thermophilus*

2.2 เชื้อรา

Aspergillus niger, A. oryzae

2.3 ยีสต์

Candida pintolepessi, Saccharomyces cerevisiae

3. คุณสมบัติของโปรไบโอติก

1. สามารถสร้างกรดแลคติก ทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น จึงเกิดการย่อย และการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่าง ๆ ได้ดีขึ้น (กิจการ, 2541) และปรับสภาพของระบบทางเดินอาหารให้อยู่ในสรูปที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก (นวลจันทร์, 2533)

2. สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหารได้ดี (Kontula *et al.*, 1998) เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *L. casei* สามารถทนกรดที่ระดับ pH 4.0 ได้นานถึง 21 วัน (Shirota, 1969) *Lactobacillus* ที่แยกได้จากไส้ติ่งมีความทนทานต่อกรดได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่แยกจากลำไส้เล็กส่วน ileum โดยทั่วไปแล้ว *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่ใน ileum สามารถมีชีวิตรอดได้ในสภาพ pH 1.0 และ 2.0 เจริญได้ดีที่ pH 3.0 สำหรับสายพันธุ์ที่อาศัยอยู่ในไส้ติ่งจะมีชีวิตที่ pH 1.0 เป็นเวลา 2 ชั่งโมงขึ้นไป มีการเจริญปานกลางที่ pH 2.0 และเจริญได้ดีมากที่ pH 3.0 และ 4.0 ตามลำดับ (Jin *et al.*, 1996a) *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* NIA 527 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ยึดเกาะที่ microvilli ของเซลล์ได้ดีมีความทนทานต่อสภาพกรดต่ำที่ pH 2.5 เป็นเวลา 30 นาที (Kimoto *et al.*, 1999) *Lactobacillus acidophilus* (ADH) สามารถทนกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์อื่น ๆ (Conway *et al.*, 1987) *Lactobacillus gasseri* สามารถรอดชีวิตได้มากที่ pH 3.0, 2.0 และ 1.5 ตามลำดับ (Arihara *et al.*, 1998) *Lactobacillus* สายพันธุ์ BFE 1058 และ 1061 มีความสามารถในการทนต่อ pH ต่ำดีกว่าสายพันธุ์ BFE 1059 (Toit *et al.*, 1998) และ *Lactobacillus sake* (RM 10) และ *Pediococcus acidilactici* (P2) สามารถมีชีวิตรอดได้สูงสุดที่ pH 3.0 (Erkkila and Petaja, 2000)

3. สามารถทนต่อน้ำดีได้เนื่องจากน้ำดีมีหน้าที่ขับสารตกค้างในร่างกาย เช่น ยา หรือแร่ธาตุบางตัว (Kontula *et al.*, 1998) ได้มีงานวิจัยศึกษา *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* NIA 527 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ยึดเกาะกับเซลล์ enterocyte-like Caco-2 พบว่า สามารถเจริญได้บน MRS agar ที่ประกอบด้วย oxgall 0.5 – 0.9 % (Kimoto *et al.*, 1999) Arihara และคณะ (1998) ศึกษาการทนเกลือน้ำดีของเชื้อ *L. gasseri* บน MRS agar ที่มี pH 5, 6 และ 7 แล้วเติมเกลือน้ำดี

ชนิดผงเข้มข้น 0 -200 ppm พบว่า *L. gasseri* เจริญได้มากที่ระดับความเข้มข้นของเกลือน้ำดี 125, 250 และ 500 ppm *L. acidophilus* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม lactobacilli ซึ่งอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์มีสมบัติทนต่อเกลือน้ำดี และมีความสำคัญต่อระบบสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ อาหารเสริมที่มีเซลล์ของ *L. acidophilus* จะช่วยปรับปรุงและรักษาสมดุลจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ และช่วยรักษาโรคที่เกิดกับลำไส้ด้วย (Brennan *et al.*, 1993) *L. reuteri* BFE 1058 และ *L. johnsonii* BFE 1061 มีความสามารถในการทนเกลือน้ำดีมากกว่า *L. johnsonii* BFE 1059 (Chateau *et al.*, 1994) และ *L. sake* (RM 10) และ *Pediococcus acidilactici* (P2) สามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.30 (Erkkila and Petaja, 2000)

4. เมื่อเจริญร่วมกับจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร สามารถออกฤทธิ์ได้ดีในทางเดินอาหารทุกส่วน (นวลจันทร์, 2533) สอดคล้องกับ Gilliland (1979) รายงานว่า *Lactobacillus* ที่เป็นประโยชน์ในทางเดินอาหาร คือ *L. acidophilus, L. casei, L. bifidus* (*Bifidobacterium bifidus*) สิ่งมีชีวิตเหล่านี้สามารถมีชีวิตรอดและเติบโตในทางเดินอาหารได้

5. สามารถแข่งขันกับเชื้อโรคในการยึดเกาะผนังลำไส้ ซึ่งโดยปกติเชื้อโรคจะเข้าเกาะและต่อต้านการเคลื่อนที่ของลำไส้ที่มีการบีบตัวให้อาหารเคลื่อนที่ในลักษณะลูกคลื่น (peristalsis) (Fuller, 1993) ซึ่งการเกาะเคลือบของโปรไบโอติกที่ผนังทางเดินอาหารนี้จะทำให้การย่อยอาหาร และการดูดซึมเป็นไปอย่างปกติ (Fuller, 1993) สอดคล้องกับการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียแลกติกพวก *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *L. pentosus* UK1A, *L. pentosus* SK2A, *Enterococcus faecium* M74, *E. faecium* SF273 ในการแข่งขันกับเชื้อโรคในการยึดเกาะผนังลำไส้ พบว่าเชื้อแบคทีเรียแลกติกทุกชนิดที่ทดสอบสามารถแย่งยึดเกาะผนังลำไส้กับเชื้อ *Clostridium perfringens* ได้ดี โดยสามารถลดอัตราการยึดเกาะกับผนังลำไส้ของเชื้อ *C. perfringens* จาก 79.1% เป็น 53.7% (Rinkinen *et al.*, 2003)

6. สามารถสร้างเอนไซม์ pectinase, β -galactosidase, amylase, protease, lactase และ cellulase มีผลทำให้การย่อย และการใช้ประโยชน์ของสารอาหารต่าง ๆ ดีขึ้น (อุทัย, 2535)

7. สามารถสร้างสารต่อต้านเชื้อโรคทั้งที่เป็น primary metabolite เช่น กรดอินทรีย์ และ secondary metabolite เช่น hydrogen peroxide และ bacteriocin เป็นต้น (Fuller, 1993) สอดคล้องกับ Arihara และคณะ (1998) พบว่า *L. gasseri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลกติกที่พบได้มากในทางเดินอาหารของคน และมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก จะช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* รวมถึงลดการสร้าง enterotoxin ในระหว่างการหมักไส้กรอกได้ การหมักกรดแลกติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือแบคเทอริโอซิน ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะกับการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

8. การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ ซึ่งสามารถพบได้ใน *Lactobacillus* sp. ที่สามารถกระตุ้นการสร้าง gamma globulin, gamma interferon และส่งเสริมกิจกรรมของ macrophage ซึ่งเป็นสาเหตุของการกำจัดเชื้อโรคออกจากร่างกาย (Fuller, 1993) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kaila (1992) มีการนำ *Lactobacillus* sp. (GG) จากผลิตภัณฑ์นมหรือโยเกิร์ตให้ผู้ป่วยโรคท้องร่วงรับประทาน พบว่า ทำให้ร่างกายผู้ป่วยสามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้ดียิ่งขึ้นร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับประทาน *Lactobacillus* sp. (GG) มีการสร้างภูมิคุ้มกันเพียงร้อยละ 46

9. ลดการสังเคราะห์เอมีนที่เป็นพิษในระบบทางเดินอาหารเพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ของสารต่าง ๆ ในร่างกาย (อุทัย, 2535)

10. ลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (colon) โดยไปลดเอนไซม์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง เช่น β - glucuronidase, azoreductase, nitrate reductase และ β - glucosidase (Kontula *et al.*, 1998; Renner and Münzner, 1991; Naidu *et al.*, 1999; Saarela *et al.*, 2000) สอดคล้องกับรายงานของ Gilliland (1989) พบว่านมที่มี *L. casei* เป็นส่วนประกอบจะช่วยกระตุ้นการทำงานของ macrophage ในหนูได้ โดยการทดสอบให้หนูกินนมที่มี *L. casei* เป็นส่วนประกอบ หลังจากนั้น 8 วัน นำหนูมาฆ่า และตรวจกิจกรรมของเอนไซม์ที่มาจาก macrophage ในการทดลองนี้วัดกิจกรรมของเอนไซม์ lactase dehydrogenase (LDH) พบว่าการบริโภคนมที่มีส่วนประกอบของ *L. casei* จะมีผลในการเพิ่มระดับ LDH ทำให้ลดการเพิ่มของเซลล์มะเร็งในร่างกายได้

11. แย่งอาหารของเชื้อก่อโรค (Fuller, 1993)

12. เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และสามารถมีชีวิตอยู่ในลำไส้ได้นานประมาณ 24 ชั่วโมง (นวลจันทร์, 2533)

13. สามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิกว้าง คือ 20-60 °C (กิจการ, 2541)

14. สร้างสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น folate ช่วยสร้างเม็ดเลือดแดง และวิตามินบี 2 ที่ช่วยบำรุงเส้นผมและเล็บ (Fuller, 1993)

15. ลดระดับ cholesterol ในเลือด (กิจการ, 2541) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Buke และ Gilliland (1990) โดยมีการใช้เชื้อ *L. acidophilus* ควบคุมระดับ cholesterol เนื่องจากจะช่วยดูดซึม cholesterol ในลำไส้ได้ โดยแยกเชื้อ *L. acidophilus* จากอุจจาระของอาสาสมัคร 9 คน พบว่า *L. acidophilus* (O16) จะดูดซึม cholesterol ได้มากที่สุด คือ 50.9 µg/ml และ D5 จะดูดซึมได้น้อยที่สุด คือ 28 µg/ml Toit และคณะ (1998) ทดสอบการใช้เชื้อผสมของ *L.*

reuteri และเชื้อ *L. johnsonii* เป็นอาหารเสริมโปรไบโอติกแก่ลูกสุกรปริมาณ 2 X 10^{12} CFU ต่อตัวต่อวัน ปรากฏว่าสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด และช่วยเพิ่มความชื้นในมูลสุกรได้

16. มีความคงตัว และมีอัตราการรอดชีวิตสูงในสภาพเก็บรักษาระยะเวลานานและการใช้จริงในฟาร์ม (Havenaar *et al.*, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

17. มีความคงตัว และมีชีวิตอยู่ได้นานในการผสมอาหารสัตว์ เนื่องจากการผลิตอาหารสัตว์บางชนิดต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อน แรงอัดเพื่อการอัด และสภาพกรดหรือการ extrusion และ oxidation เช่น วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์บางชนิดช่วยในการถนอมคุณภาพอาหารสัตว์ และควรมีคุณสมบัติทนทานต่อสารปฏิชีวนะที่ผสมในอาหารสัตว์ (Havenaar *et al.*, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

18. ไม่ตกค้างในซากสัตว์ (Havenaar *et al.*, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

19. ไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร (Havenaar *et al.*,, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

20. ไม่เป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ไม่ทำให้เกิดอาการแพ้ (Havenaar *et al.*, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

21. เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ ต้องเพาะเลี้ยงง่าย เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และราคาไม่แพง (Havenaar *et al.*, 1992; Nousiainen and Setala, 1998)

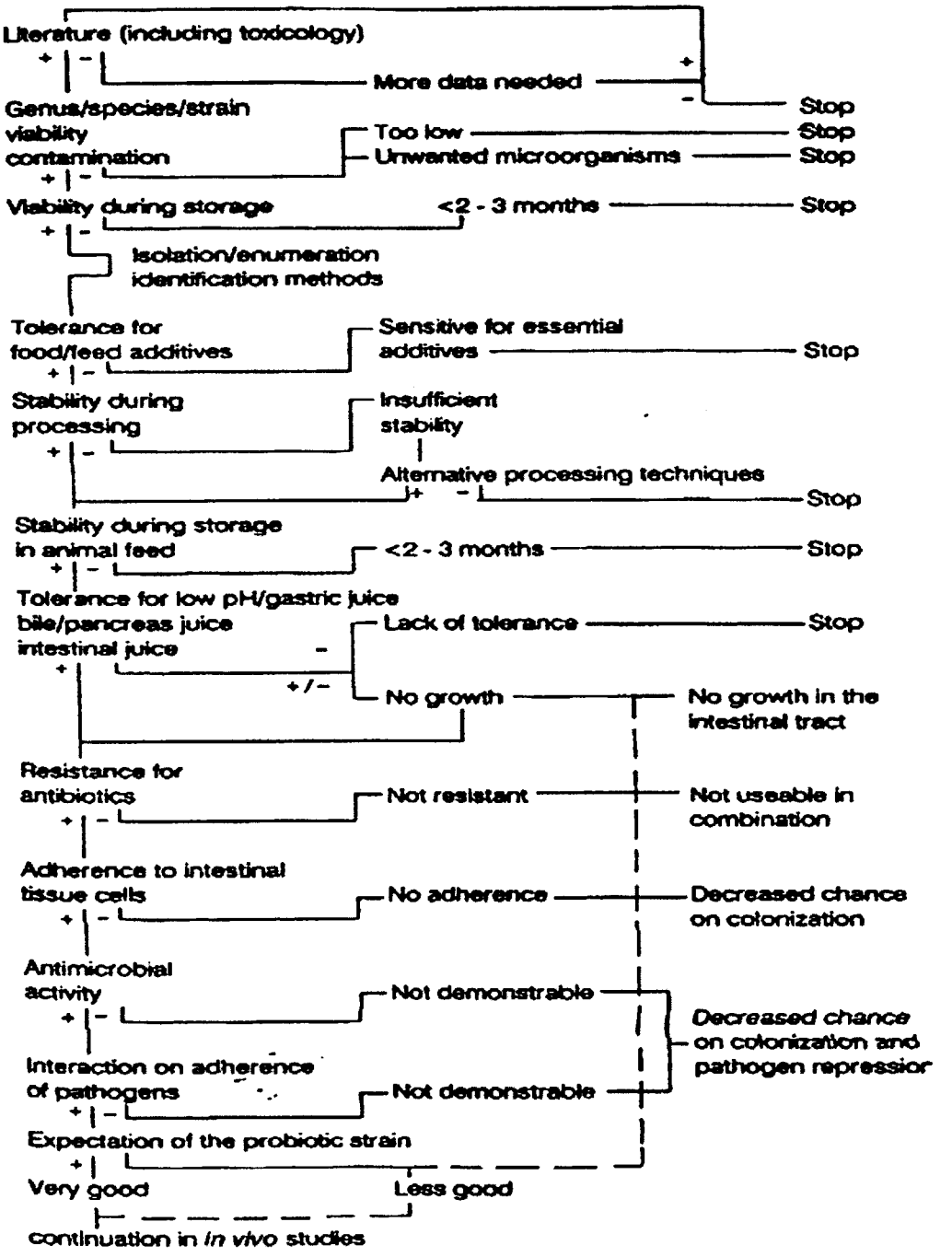
4. วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรไบโอ ติก

การพิจารณาคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้เป็นโปรไบโอติกนั้น สิ่งสำคัญประกอบด้วย 2 ประการคือ

- เป็นจุลินทรีย์ที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่ว ๆ ไป และมีความปลอดภัยตลอดระยะเวลาในการใช้ทั้งระยะสั้นและระยะยาว ตามมาตรฐาน GRAS (Generally Recognized As Safe Microorganism)

- เป็นโปรไบโอติกที่มีความจำเพาะเจาะจง คือจุลินทรีย์ที่พิจารณาต้องระบุกลุ่มเป้าหมายที่จะนำไปใช้ให้ชัดเจนว่าในคนหรือสัตว์ประเภทใด ชนิดใด จุลินทรีย์นั้นจึงจะออกฤทธิ์หรือมีเมตาบอลิซึมให้ประโยชน์ตามที่ต้องการได้ และการนำจุลินทรีย์ที่แยกได้จากบริเวณเนื้อเยื่อใด ในสัตว์ชนิดใด ก็มักแสดงผลบวกกับผู้ให้อาศัยชนิดเดียวกันด้วย ซึ่งอาจจะใช้ไม่ได้ผลกับสัตว์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันออกไป เช่น ด้านสรีรวิทยาของเยื่อบุผิว ระบบการย่อยอาหารภายในกระเพาะและลำไส้ รวมทั้งการยึดเกาะกับเยื่อบุผนังภายในร่างกาย การขยายพันธุ์ การได้ผลบวกในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการ อาจจะไม่ได้ผลบวกในการ

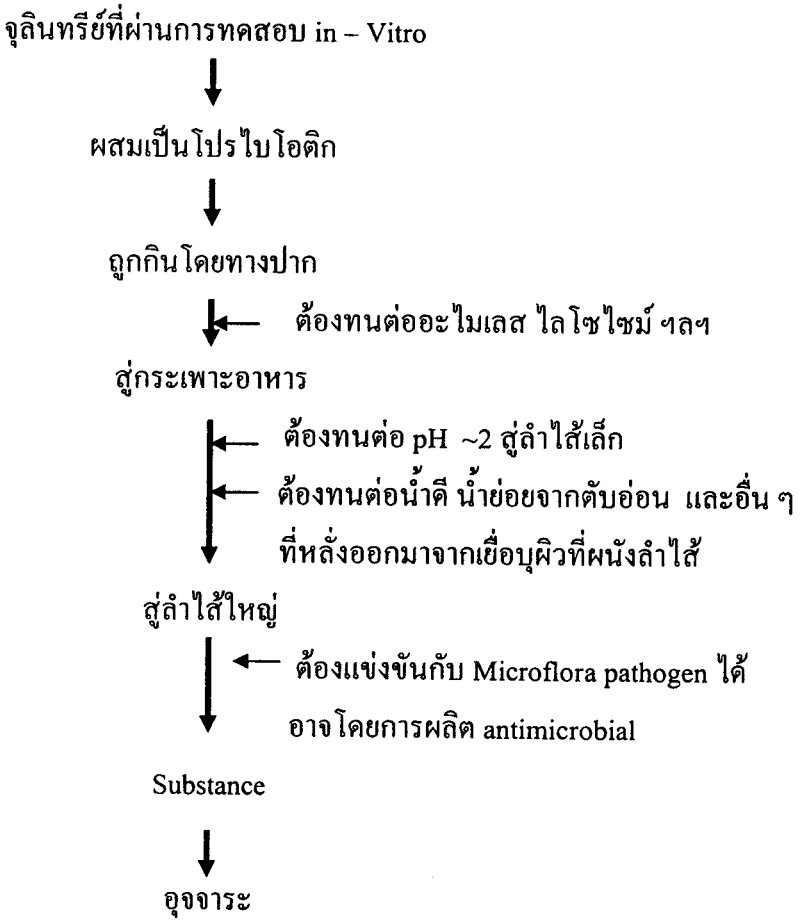
ทดลองกับสัตว์ทดลองหรือผลบวกทางคลินิกก็เป็นได้ เนื่องจากผลของความแตกต่างของสภาวะที่ใช้ในการปฏิบัติ แผนผังวิธีคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติก แสดงไว้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผนผังวิธีคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติก

ที่มา : Fuller R. (1992)

การใช้โปรไบโอติกเพื่อให้ผลตามที่มุ่งหวังนั้น จุลินทรีย์ที่ผ่านจากปากเข้าสู่ภายในระบบทางเดินอาหารของร่างกายจะต้องรอดชีวิต และสามารถยึดเกาะกับเยื่อบุผิวภายในอวัยวะต่าง ๆ ตามบริเวณหรือจุดที่จำเพาะเจาะจงที่ได้คัดเลือกสายพันธุ์ พร้อม ๆ มีการแข่งขันการเจริญเติบโตกับพวกจุลินทรีย์ประจำถิ่นได้ มีการขยายเผ่าพันธุ์ และผลิตสารเคมีที่เป็นประโยชน์ได้ จุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นต้นในห้องปฏิบัติการ จะต้องได้รับการทดสอบจนมั่นใจในสัตว์ทดลอง และในผู้บริโภค (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แผนผังปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการคัดเลือกโปรไบโอติก
ที่มา : ทัศนีย์ (2539)

5. แบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria)

5.1 ลักษณะโดยทั่วไป

แบคทีเรียแลกติกสามารถย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างกลม หรือเป็นรูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์ catalase (Axelson, 1993) สร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในการหมักคาร์โบไฮเดรตได้พลังงานจากน้ำตาล และสารที่มีโครงสร้างคล้ายน้ำตาล โดยได้จากกระบวนการ substrate – level phosphorylation การเลี้ยงเชื้อในอาหารธรรมดาค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อมีความต้องการอาหารที่ซับซ้อน เช่น วิตามินต่าง ๆ, กรดอะมิโน, ไพริมิดีน สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในบริเวณที่มีออกซิเจน ไม่มีออกซิเจน และมีออกซิเจนน้อย อุณหภูมิที่เชื้อสามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 2 - 53 °C อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30- 40 °C ส่วนช่วง pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.58 – 6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ pH $\leq$ 5 อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออยู่ในสรูปที่เป็นกลาง หรือเป็นด่าง (Salminen and Wright, 1993)

5.2 แหล่งที่พบ

แบคทีเรียแลกติกสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก ผลิตภัณฑ์ข้าว ผลิตภัณฑ์จากเนื้อและปลา ไวน์ ผลไม้ และน้ำผลไม้ อีกทั้งยังเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในช่องปาก ทางเดินอาหาร และอวัยวะสืบพันธุ์ (Salminen and Wright, 1993)

5.3 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียแลกติก

แบคทีเรียแลกติกเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ต้องการอาหารพิเศษหรือเฉพาะในการเจริญเติบโต (Fastidious microorganism) มีความต้องการสารอาหารต่าง ๆ เช่น

คาร์โบไฮเดรต (Salminen and Wright, 1993)

แบคทีเรียแลกติกสามารถใช้น้ำตาลได้หลายประเภทจาก monosaccharide ประเภท pentose เช่น arabinose, ribose และ xylose เป็นต้น และ hexose เช่น fructose และ mannose disaccharide เช่น maltose trisaccharide เช่น maltotriose polymer เช่น แป้ง นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตพวก oligosaccharides เช่น raffinose และ fructooligosaccharide เป็นต้น ซึ่งในระบบทางเดินอาหารไม่มีเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตชนิดนี้ได้

ในกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตจะได้ผลผลิต 2 แบบ คือ homofermentative ได้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว และ heterofermentative ได้กรดแลคติก กรดอะซิติก หรือ เอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ไนโตรเจน (Salminen and Wright, 1993)

แบคทีเรียแลกติกสามารถเติบโตได้ดีในอาหารที่มีสารอาหารมาก หลายสายพันธุ์ต้องการกรดอะมิโนหลายชนิด และจะเจริญได้น้อยมากหากไม่มีแหล่งไนโตรเจน กรดอะมิโนที่แบคทีเรียแลกติกต้องการ เช่น serine และ arginine เป็นต้น

วิตามิน (Salminen and Wright, 1993)

วิตามินที่แบคทีเรียแลกติกใช้ในการเจริญเติบโต ได้แก่ thiamine (B1), riboflavin (B2), pyridoxine (B6), folic acid (B9), cyanocobalamine (B12) และ nicotinic acid โดยที่ *Bifidobacterium infantis* สามารถสังเคราะห์วิตามิน B1, B2, B6, B9 และ B12 ได้เป็นจำนวนมาก ส่วน *B. brevis* และ *B. lingum* สามารถสังเคราะห์วิตามิน B1, B2, B6, B9 และ B12 ได้เป็นจำนวนน้อย และ *B. adolescentis* ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามิน B1, B2, B6, B9 และ B12 ได้ นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกบางสายพันธุ์ยังต้องการ nicotinic acid, pantothenic acid, biotin, riboflavin และ folinic acid

5.4 แบคทีเรียแลกติกในระบบทางเดินอาหารสุกร

Lactobacillus เป็นจุลินทรีย์ที่เป็น normal flora ของระบบทางเดินอาหารของสัตว์และคน (Sandine *et al.*, 1972 ; Sandine, 1979) ชนิดของ *Lactobacillus* ในระบบทางเดินอาหารสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกัน (Gilliland *et al.*, 1975) *Lactobacillus* ที่มักพบในระบบทางเดินอาหารได้แก่ *L. acidophilus, L. bifidus, L. casei, L. fermentum* และ *L. plantarum* (Gilliland, 1979) สำหรับจำนวน *Lactobacillus* มีประมาณ 10^8 เซลล์ต่อกรัมมูลสุกร (Gilliland *et al.*, 1975) สอดคล้องกับ Harvath และคณะ (1958) ได้ศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในมูลสุกร ได้รายงานว่ามี *Lactobacillus* 10^8 เซลล์ต่อกรัมมูลสุกร สำหรับ *Lactobacillus* ในส่วนต่าง ๆ ของท่อทางเดินอาหารสุกรได้รวบรวมจากรายงานของ Pollmann และคณะ (1980) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 *Lactobacillus* ในท่อทางเดินอาหารสุกร

Tissue	Gnotobiotic pig 1/	Conventional pig 2/
	Log CFU/g	
	Average	Average
Gardiac	4.29	8.61
Fundic	3.82	8.06
Duodenum	3.54	7.95
Jejunum	3.92	7.10
Ileum	3.47	8.25
Cecum	3.53	10.69
Colon	3.79	10.97
Feces	3.89	10.20
Average	3.79	8.98

1/ สุกรที่เลี้ยงในสภาพปราศจากเชื้อ 2/ สุกรที่เลี้ยงในสภาพปกติ

ที่มา : Pollmann และคณะ (1980)

5.5 ความทนทานของ *Lactobacillus* ต่อการยับยั้งการเจริญโดยระบบทางเดินอาหาร

มีปัจจัยหลายอย่างที่ควบคุมจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร สิ่งที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อันดับแรก คือน้ำย่อยจากกระเพาะอาหารซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งจะสัมพันธ์กับ pH และความเข้มข้นของกรดเกลือ นอกจากนี้ในกระเพาะอาหารยังมีเอนไซม์บางชนิด เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) ซึ่งจะทำลายแบคทีเรีย ส่วนในลำไส้นั้นจุลินทรีย์ต้องทนต่อเกลือน้ำดี (bile salt) ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Hawley *et al.*, 1959; Sandinc *et al.*, 1979) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังต้องอยู่รอดในที่ที่มีความตึงผิวต่ำ และกลไกอีกอันหนึ่งซึ่งควบคุมจุลินทรีย์ในลำไส้คือภูมิต้านทานของสัตว์ (Gilliland *et al.*, 1979)

Gilliland (1979) ได้รายงานถึงการทนกรดในกระเพาะอาหารของ *Lactobacillus* ชนิดต่าง ๆ คือ *L. casei* ทนกรดได้ดีกว่าชนิดอื่น ๆ คืออยู่รอดอย่างสมบูรณ์ใน 3 ชั่วโมงที่อยู่ในสารละลาย gastric juice สังเคราะห์ซึ่งมี pH 3.0 ที่อุณหภูมิ 37 °C ส่วน *L. acidophilus* และ

L. plantarum สามารถทนกรดได้ดีเช่นกัน นอกจากนี้ Shirota (1962) ได้รายงานว่า *L. acidophilus* และ *L. casei* สามารถทนกรดที่ระดับ pH 4.0 ได้นานถึง 21 วัน มีรายงานว่า ระดับ pH ของของเหลวในท่อทางเดินอาหารสุกรนั้นแตกต่างกันดังนี้คือ ในกระเพาะอาหารมี pH ต่ำสุด (4.2-5.1) ลำไส้เล็กตอนต้นมี pH 6.2-7.1 ระดับ pH ของลำไส้เล็กตอนปลายสูงกว่าลำไส้เล็กตอนต้นเล็กน้อยคืออยู่ระหว่าง 6.8 – 8.0 ระดับ pH ของของเหลวใน caecum มีค่าประมาณ 6.5 – 7.2 ส่วน pH ของของเหลวในบริเวณลำไส้ใหญ่มีความแตกต่างกันในช่วงค่อนข้างกว้างคือ 6.4 – 8.0 (Riis and Jakobson, 1969) โดยทั่ว ๆ ไปพบว่า pH ของของเหลวในกระเพาะอาหารของสุกรที่กำลังอยู่ในระยะกินนมจะสูงกว่า pH ของของเหลวในกระเพาะอาหารลูกสุกรที่หย่านมแล้ว ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ระดับ pH ในกระเพาะอาหารของลูกสุกรที่กำลังอยู่ในระยะกินนมและลูกสุกรที่หย่านมเมื่ออายุ 10 วัน

อายุ (วัน)	pH (mean ± S.E.M.)	
	ลูกสุกรที่กำลังกินนม	ลูกสุกรที่หย่านม
10	3.77 ± 0.04	4.19 ± 0.45
20	4.77 ± 0.49	3.42 ± 0.18
30	5.02 ± 0.34	4.29± 0.34
40	3.61 ± 0.42	3.24 ± 0.53
50	4.19 ± 0.28	3.79 ± 0.69
60	3.46 ± 0.23	2.84 ± 0.38

ที่มา : Kidder และ Manners (1978)

ปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์คือกิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ นักวิจัยที่ต้องการจะแยก DNA จาก *Lactobacillus* พบว่าเป็นการยากอย่างยิ่งที่จะทำลาย *Lactobacillus* ด้วยเอนไซม์ไลโซไซม์ แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus* สามารถทนต่อเอนไซม์ไลโซไซม์ ดังนั้นจึงไม่เป็นปัญหาสำหรับ *Lactobacillus* ในการเอาชนะสิ่งยับยั้งนี้ในระบบทางเดินอาหาร (Gilliland *et al.*, 1979)

Gilliland (1977) ได้แยก *Lactobacillus* ที่ทนน้ำดีโดยใช้อาหาร Lactobacillus Selection Agar ซึ่งเติม oxgall 0.15 % และได้รายงานว่า *L. plantarum, L. fermentum, L. acidophilus, L. brevis* และ *L. casei* เจริญได้ดีในสภาวะดังกล่าว ส่วน *L. bulgaricus* และ *L. lactis* เจริญไม่ได้ Collins (1978) ได้แยก *L. acidophilus* ที่ทนเกลือน้ำดีโดยใช้อาหาร MRS agar ซึ่งเติม Oxgall 0.2 % กลไกอีกอย่างหนึ่งในการควบคุมจุลินทรีย์ในลำไส้ คือภูมิต้านทานของสัตว์ ในด้านนี้ โดยเฉพาะเกี่ยวกับเชื้อ *Lactobacillus* ยังมีรายงานน้อยมาก ในการศึกษาพบว่า *L. acidophilus* ซึ่งแยกจากลำไส้คนและสัตว์อื่น ๆ จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน (Gilliland *et al.*, 1975) ดังนั้นในการอยู่รอดของ *Lactobacillus* ในลำไส้อาจเกี่ยวข้องกับความจำเพาะเจาะจงของ host นั้น ๆ ด้วย (Gilliland *et al.*, 1979) Barrow และคณะ (1980) ได้ศึกษาการยึดเกาะ (attachment) ของ *Lactobacillus* กับ squamous epithelial cell ของสุกร พบว่า *Lactobacillus* ที่แยกจากสุกรเท่านั้นที่สามารถเกาะติดกับ squamous epithelial cell ของสุกร ในขณะที่ *Lactobacillus* ซึ่งแยกจากสัตว์อื่น ๆ ไม่สามารถทำได้ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความจำเพาะเจาะจงของ *Lactobacillus* จากแหล่งต่าง ๆ ในการเกาะติดกับ squamous epithelial cell ของสุกร

Source	Adhesion to epithelial cells by lactobacilli
Large White pigs	15/17[1/]
Wild boar	1/2
Sheep	0/2
Goat	0/4
Cow	0/4
Guinea pig	0/3
Rat	0/3
Fowl	2/6
Milk and milk products	0/10

1/ จำนวนสายพันธุ์ที่สามารถเกาะติดกับ epithelial cell ต่อ จำนวนสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ

ที่มา : Barrow และคณะ (1980)

5.6 การสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นของแบคทีเรียแลกติก

5.6.1 กรดอินทรีย์ (Organic acid)

กรดอินทรีย์ที่สร้างโดยแบคทีเรียแลกติกได้แก่ กรดแลกติก และกรดอะซิติก สำหรับกรดอะซิติกเป็นตัวยับยั้งที่แรงที่สุด และมีช่วงการยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้งได้ทั้งยีสต์ รา และแบคทีเรีย ค่า pKa ของกรดอะซิติกสูงกว่ากรดแลกติก (4.75 และ 3.08 ตามลำดับ) การใช้กรดทั้งสองชนิดร่วมกันสามารถลดอัตราการเจริญของ *Salmonella typhimurium* ได้มากกว่าการใช้กรดชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียว จึงกล่าวได้ว่ากรดทั้งสองมี synergistic activity (Rubin, 1978)

เมื่อกรดอินทรีย์เข้าไปภายในเซลล์แล้วกรดจะแตกตัวปล่อยโปรตอนเข้าไปใน cytoplasm ทำให้เกิดภาวะที่เป็นกรดจึงทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ กรดอินทรีย์มีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ โดยการเกิดปฏิกิริยากับเซลล์ มีผลทำลายเซลล์หรือหน่วงเหนี่ยวจุลินทรีย์นั้น ๆ (Fuller, 1989) แบคทีเรียแลกติกที่มีรายงานว่า สามารถยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคส่วนใหญ่จะเป็น *Lactobacillus* ได้แก่ *Lactobacillus sake* ที่แยกจากเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อสามารถสร้างกรดอินทรีย์มายับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ได้

Jin และคณะ (1996b) ได้ศึกษา *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella enteritidis* 935/37, *S. pullorum, S. typhimurium, S. blokley* และ *S. enteritidis* 9/448 และ *E. coli* 3 serotype อันได้แก่ *E. coli* 01 : K1 และ 02 : K1 และ 078 : K80 โดยการผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นมา

ข้อสันนิษฐานเกี่ยวกับกลไกการยับยั้งคือ กรดอินทรีย์แพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เพราะสามารถละลายได้ในไขมัน (Bearso *et al.*, 1997) การสะสมของกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียแลกติกสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญ ส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างในช่วงแรกของการเจริญลดลง และมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ทนกรด (Mayra and Bigret, 1998) นอกจากนี้ได้มีผู้ทำการศึกษากลุ่มอื่น ๆ ให้ข้อเสนอแนะว่า ไม่ใช่เป็นเพราะการเคลื่อนย้ายโปรตอน แต่เป็นการสะสมของประจุลบซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้ โดยมันจะไปลดอัตราการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ และมีผลกระทบต่อการเคลื่อนย้ายสารบริเวณเหนือเยื่อหุ้มเซลล์

Torriani และคณะ (1997) ได้มีการทดสอบกรดแลคติกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในผักสลัด พบว่าถ้าเติมกรดแลคติกร้อยละ 1 ลงไป จะมีผลในการทำลายแบคทีเรียเกือบทุกกลุ่มที่ใช้ทดสอบ แต่ยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดและ faecal coliform ได้เพียง

บางส่วน และเมื่อเติมกรดแลคติกร้อยละ 0.5 ลงไป จะไม่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในผัก

5.6.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นสารที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึม ในระหว่างการเจริญเติบโตของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* และจะสะสมเพิ่มขึ้นในอาหาร เนื่องจาก *Lactobacillus* ไม่มีเอนไซม์ catalase ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย H_2O_2 มีรายงานว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.12 มิลลิโมล/ลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ lactococci ได้ร้อยละ 50 และความเข้มข้นมากกว่า 1.5 มิลลิโมล/ลิตร จะทำให้เซลล์ตาย (Ander, 1970)

ในสภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียแลกติกจะสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงและมีผลต่อเซลล์แบคทีเรีย โดยหมู่ sulfhydryl ภายในโมเลกุลโปรตีนของเซลล์และในชั้นไขมันที่เมมเบรนสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ (Lindgren and Dobrogosz, 1990) ทำให้โครงสร้างของกรดนิวคลีอิกและโปรตีนในเซลล์เปลี่ยนไปจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ

นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังสามารถรวมตัวกับสารประกอบอื่นเกิดเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นได้ เช่น ในน้ำนมดิบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำปฏิกิริยากับไธโอไซยาเนต โดยมีเอนไซม์ lactoperoxidase เป็นตัวเร่งปฏิกริยา ทำให้เกิดเป็นไฮโปไธโอไซยาเนต ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ (Banks *et al.*, 1986)

$$SCN^- + H_2O_2 \xrightarrow{\text{lactoperoxidase}} OSCN^- + H_2O$$

โครงสร้างเมมเบรนของแบคทีเรียจะถูกทำลายหรือเปลี่ยนแปลงได้เมื่อทำปฏิกริยากับไฮโปไธโอไซยาเนต ($OSCN^-$) (Kamau *et al.*, 1990) ซึ่งสอดคล้องกับ Gilliland และ Speck (1989) ที่พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่สร้างจาก *L. acidophilus* สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้

5.6.3 คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide)

ส่วนมากคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) จะเกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสให้เป็นกรดแลกติกแบบ heterofermentative fermentation นอกจากนี้วิถีเมตาบอลิซึมอื่น ๆ ก็สามารถสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ได้ในระหว่างกระบวนการหมักคาร์บอนไดออกไซด์จะไปยับยั้งระบบเอนไซม์ของกระบวนการดีคาร์บอกซิลเลชั่น (Decarboxylation) (King *et al.*, 1975) และมีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ในชั้นไขมัน ก็เป็นเหตุให้คุณสมบัติในการซึมผ่านของสารเสียไป (Lindgren and Dobrogosz, 1990)

5.6.4 ไดอะซิทิล (Diacetyl)

ไดอะซิทิลเป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก เป็นสารให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมัก และมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วย ไดอะซิทิลที่มีความเข้มข้น 200 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรีย ส่วนที่ความเข้มข้น 300 µg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช่แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ส่วนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นสูงกว่า 350 µg/ml

มีรายงานว่าไดอะซิทิล (2,3-butanedione) มีฤทธิ์ต่อต้าน *Bacillus* sp., แบคทีเรียแลกติกที่สามารถสร้างไดอะซิทิลได้แก่ *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* และ *Streptococcus* (Jay, 1982) นอกจากนี้ยังพบว่าไดอะซิทิลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และราได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก กลไกการยับยั้งคาดว่าน่าจะเกิดจากการทำปฏิกริยากับโปรตีนที่ยึดจับตรงตำแหน่งกรดอะมิโนอาร์จีนีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนหรือเอนไซม์ (Ouwehand, 1998)

Kang และ Fung (1999) ได้ศึกษาพบว่า ไดอะซิติล 300 ppm มีผลในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* O157:H7 และ *Samonella typhimurium* ในระหว่างการหมักเนื้อได้

5.6.5 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แบคเทอริโอซิน คือสารโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรีย มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นได้รวดเร็ว คุณสมบัติของแบคเทอริโอซิน จะพิจารณาจากขนาด ความคงตัว ตำแหน่งทางพันธุกรรม การดัดแปลงหลังผ่านกระบวนการแปลรหัสทางพันธุกรรม (Post-translational modification) และกลไกการทำงานของสารแบคเทอริโอซิน แบคเทอริโอซินแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ คือ (Hill, 1995)

5.6.5.1 Class I : Lantibiotic

1) Nisin

Nisin A ควบคุมการสร้างโดยยีน *nis* A ขนาด 174 bp. โมเลกุลของ pre-nisin เป็นเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 57 ตัว เกิดขึ้นมาหลังจากกระบวนการแปลรหัสพันธุกรรม และเปลี่ยนมาอยู่ในรูป pro-nisin เมื่อตัดกรดอะมิโนตรง leader peptide ของ pre-nisin ออกไป 3 ตัว โมเลกุลสมบูรณ์ที่พร้อมจะทำงานได้ต้องผ่านกระบวนการ dehydration ก่อน จะได้ลักษณะโมเลกุลมีประจุบวกและลักษณะไม่ชอบน้ำ โมเลกุลที่ได้มีขนาดเล็ก และมักพบอยู่เป็นสองโมเลกุล (dimer) มีความเสถียร nisin A มีฤทธิ์ฆ่าเซลล์ที่ไวต่อสารชนิดนี้ให้ตายได้ภายใน 1 นาที โดย nisin จะมีผลต่อเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านพลังงานของเซลล์ การดูดซึม nisin จะเป็นอันตรกริยาโดยตรงระหว่างโมเลกุลของ nisin และเยื่อหุ้มเซลล์ บางครั้งเกิดจากประจุบวกของ nisin ทำปฏิกิริยากับประจุลบที่ผนังเซลล์ เมื่อ nisin จะแทรกเข้าไปภายในจะทำให้เกิดรูขึ้นที่ผนังเซลล์ เป็นผลให้สารประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำภายในเซลล์ไหลออกมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ nisin ยังไปลดประจุที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วย nisin สามารถไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารในห่วงโซ่อิเล็คตรอนได้ เป็นผลให้การรับออกซิเจนถูกยับยั้ง เซลล์ที่ไวต่อ nisin จึงไม่สามารถได้รับพลังงานไปใช้ในการสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีนหรือกรดนิวคลีอิค นอกจากนี้ยังพบว่า การเติม chealating agent จะช่วยให้เซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความไวต่อ nisin โดยสารนี้จะไปรบกวนสรูปที่สมบูรณ์ของผนังเซลล์ ยอมให้แบคเทอริโอซินเข้าไปในเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม

Nisin Z มีคุณสมบัติแพร่ผ่านวุ้นได้ดี และแสดงกิจกรรมทางชีววิทยาเช่นเดียวกับ nisin A แตกต่างตรงกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 27 ของสายเปปไทด์ โดย nisin Z จะมี histidine แทนที่ตำแหน่ง aspatate ของ nisin A และจากการศึกษาของ ชลัท (2542) พบว่า *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* สายพันธุ์ NSC1 สามารถผลิตไนซินชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนที่ 27 เป็นแอสพาราจีน จึงพิสูจน์ได้ว่าเป็นไนซินชนิดแซด (nisin Z)

2) Lactocin S เป็น lantibiotic ที่ผลิตโดย *Lactobacillus sake* โมเลกุลที่สามารถทำงานได้จะเป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 37 ตัว และอยู่กับ lanthionine 2 กลุ่ม

3) Lacticin 481 ผลิตโดย *Lactobacillus lactis* โครงสร้างปฐมภูมิของ lacticin 481 ไม่มีความสัมพันธ์กับ nisin เมื่อพัฒนาเป็นโมเลกุลที่สมบูรณ์พร้อมทำงาน จะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโน 27 ตัว และแสดงลักษณะของ lanthionine ด้วย

5.6.5.2 Class II : Small heat-stable bacteriocin

ขนาดโมเลกุลจะเล็ก ประกอบด้วยกรดอะมิโน 36 และ 57 ตัว ตามลำดับ จะออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม แบคเทอริโอซินใน class นี้ได้แก่

1) Lactococcin A มีตำแหน่งของยีนที่สร้างอยู่บน conjugative plasmid p9B4 โมเลกุลที่พัฒนาจนสามารถทำงานได้เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดไม่มีขั้ว 5 ตัว สำหรับกลไกการทำงานจะเหมือน nisin, lactococcin A จะออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึมของเซลล์ที่มีความไวต่อสาร โดยจะไปรบกวนความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำขนาดเล็ก lactococcin A จะเกิดอันตรกริยากับ receptor ที่จำเพาะบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดรูโดย lactococcin A จะไม่ขึ้นกับความต่างศักย์ไฟฟ้าบนผิวเยื่อหุ้มเซลล์

2) Lactococcin B เป็นเปปไทด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 47 ตัว สำหรับกลไกการทำงานจะคล้ายกับ lactococcin A ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง lactococcin B อยู่ที่ตำแหน่งเดียวกับ lactococcin A

3) Lactococcin M สำหรับกลไกการทำงานจะคล้ายกับ lactococcin A ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง lactococcin M จะอยู่บน conjugative plasmid p9B4 เช่นเดียวกับ lactococcin A และ B

4) Lactacin F เป็นแบคเทอริโอซินที่สร้างโดย *Lactobacillus acidophilus* 11088 (NCK88) มีคุณสมบัติเป็นโปรตีนและทนทานต่อความร้อน สามารถทนต่อการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที มีขนาดโมเลกุล 180 kDa. มีโครงสร้างเป็นโปรตีนก้อนกลม มีฤทธิ์การยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้ง *Lactobacillus acidophilus, L. fermentum, Enterococcus faecalis, L. helveticus, L. delbrucekii* subsp. *lactis* , *L. delbrucekii* subsp. *bulgaricus* อย่างไรก็ตาม Lactacin F สามารถถูกทำลายโดย proteinase K, subtilisin, trypsin และ ficin แต่ไม่ได้รับผลกระทบจาก lysozyme, lipase และ α-amylase (Mariana and Klaenhammer, 1991)

5) Lactococcin G เป็นแบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรมการทำงานโดยอาศัยเปปไทด์ที่อยู่ในรูป α และ β ซึ่งมีความยาวของกรดอะมิโนประมาณ 39 และ 35 ตัวตามลำดับ เปปไทด์ทั้งสองนี้มีประจุสูง จึงสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์

5.6.5.3 Class III : Large heat-labile bacteriocin

ที่มีการค้นพบคือ helveticin J ซึ่งผลิตโดย *Lactobacillus helveticus* 481 เป็นโปรตีนขนาด 37 kDa. มีฤทธิ์ในการยับยั้งแคบ ควบคุมการสร้างโดยยีน *hlyJ* กลไกการทำงานจะต่างจาก class I และ II ตัวอย่างของแบคเทอริโอซินใน class นี้ได้แก่ casecin 80, lacticin A, lactacin B และ acidophilin A

มีการศึกษาพบว่า Lactobacilli และ Streptococci สามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพที่มีโมเลกุลใหญ่พวก acidolin และ nisin ได้ (Juven *et al.*, 1991)

Jimenez-Diaz และคณะ (1993) ได้พบว่า *Lactobacillus plantarum* LPCD สร้างสารที่มีการทำงานคล้ายแบคเทอริโอซิน ซึ่งเรียกว่า plantaricin D และ T

จากการรายงานที่ผ่านมาเกี่ยวกับการสร้างแบคเทอริโอซิน ได้แก่ *L. acidophilus* มักมีการสร้าง acidophilin และ lactocidin ซึ่งเป็นแบคเทอริโอซินที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* แบคทีเรียแกรมบวก enteropathogens และแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ (Wood and Hodge, 1985) *L. salivarius* subsp. *salicinius* T140 สร้างแบคเทอริโอซินคือ salivacin 140 ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *S. aureus, Yersinia enterocolitica* และ *Listeria monocytogenes* (Arihara *et al.*, 1998) *L. salivarius* subsp. *salivarius* CRL 1328 สร้างแบคเทอริโอซินซึ่งสามารถทนต่อความร้อนและสามารถฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบสืบพันธุ์ เช่น *Neisseria gonorrhoeae* (Ocana, 1999)

5.7.6 รูทีรีน (Ruterin)

รูทีรีนเป็นสารที่ไม่ใช่โปรตีน แต่เป็น β -hydroxy propionaldehyde ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ละลายได้ดีที่ pH ปานกลาง ได้จากแบคทีเรียพวก *L. reuteri* สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ รา โปรโตซัว และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp., *Listeria* sp. และ *Clostridium* sp.

5.7 การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียแลกติก

คำนิยามและการจัดจำแนกแบคทีเรียแลกติก (Lactic acid bacteria : LAB) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะในช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา ในอดีตนั้นหมายถึงกลุ่มแบคทีเรียที่ทำให้นมเปรี้ยวจากการผลิตกรดซึ่งรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มโคลิฟอร์มด้วย (Stiles and Holzapfel, 1997) ปัจจุบันถึงแม้ไม่มีนิยามที่ชัดเจนและเป็นเอกฉันท์ แต่พื้นฐานซึ่งยอมรับทั่วไปของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ แบคทีเรียแลกติกจัดอยู่ใน Family Lactobacilaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ขาดเอนไซม์คะตะเลส ขาดไซโตโครม ทนต่อสภาวะมีอากาศ (aerotolerance) ทนกรด มีทั้งลักษณะรูปร่างกลม ได้แก่ *Lactococcus, Vagococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcos, Streptococcus* และ *Enterococcus* และรูปท่อน ได้แก่ *Lactobacillus, Carnobacterium* และ *Bifidobacterium* แบคทีเรียแลกติกส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการออกซิเจนอย่างยิ่ง (strictly anaerobe) ในการเจริญ ได้พลังงานจากกระบวนการหมัก (fermentation) น้ำตาลชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสและแลกโทส มีความต้องการสารอาหารที่สมบูรณ์ (complex medium) ลักษณะที่สำคัญของแบคทีเรียแลกติก คือ ความสามารถในการย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดซึ่งทำให้เกิดรสชาติที่ต้องการในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ผักดอง แหนม เนยแข็ง แบคทีเรียแลกติกโดยเฉพาะในกลุ่ม *Lactococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus.* และ *Streptococcus* มีบทบาทในการหมักอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิดด้วยกัน เช่น นมเปรี้ยว เนยชนิดต่าง ๆ ผักและผลไม้ดอง ไส้กรอก และผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดต่าง ๆ แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการแหล่งไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน และนิวคลีโอไทด์ นอกจากนี้ยังต้องการวิตามินและเกลือแร่อีกหลายชนิด ซึ่งความต้องการสารอาหารต่าง ๆ เหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ (นภา, 2534)

Orla – Jensen (1919) เป็นผู้เริ่มจัดอนุกรมวิธานแบคทีเรียแลกติกอย่างเป็นระบบโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ชนิดของกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ และชนิดไอโซเมอร์ของกรดแลกติก โดยแบ่งเป็น 7 สกุลคือ *Betabacterium, Thermobacterium, Streptococcus, Betacoccus Microbacterium* และ *Tetracoccus* ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1937 Sherman ได้แยกกลุ่มซึ่งเจริญเฉพาะสภาวะไร้ออกซิเจน (strictly anaerobes) และกลุ่ม pneumococci ออกจากสกุล *Streptococcus* และแบ่งส่วนที่เหลือเป็น 4 กลุ่มคือ pyogenic, viridans, lactic และ enterococci

การจัดจำแนกโดยวิธีข้างต้นมีข้อจำกัด เช่น สภาวะการเจริญ ซึ่งมีผลต่อสัณฐานวิทยาของเซลล์ เช่น *Lactobacillus xylosus* และ *Lb. hordinae* ถูกจัดจำแนกใหม่เป็น

Lactococcus lactis subsp. *lactis* และ *Lc. lactis* ssp. *hordiniae* เมื่อใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมประกอบ ความเปลี่ยนแปลงเมื่อใช้เทคนิคอื่น ๆเช่น ดีเอ็นเอ : อาร์เอ็นเอไฮบริไดเซชั่น การหาลำดับเบสของ 16s และ 23s rRNA

ปัจจุบันแบคทีเรียแลกติกจำแนกเป็น 12 สกุล (De Vuyst and Vandamme, 1994) ได้แก่

1) ***Streptococcus*** สกุลนี้เซลล์มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 - 1.2 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือเป็นคู่ ผลิตกรดแลกติกชนิด L (+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส (Homofermentative) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ มีหลายชนิดเป็นปรสิตในคนหรือสัตว์ และบางชนิดสามารถทำให้เกิดโรคได้ เจริญที่อุณหภูมิ 20 - 41 °C ปัจจุบันประกอบด้วย 39 ชนิด มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 34 – 36 % (Hardie and Whiley, 1995)

2) ***Vagococcus*** เป็นแบคทีเรียแลกติกที่เคลื่อนที่ได้ (ไม่ทุกสายพันธุ์) ประกอบด้วย 2 ชนิด คือ *V. flauvialis* ซึ่งเดิมอยู่ใน Streptococci กลุ่ม N และ *V. salmoninarum* ซึ่งแยกได้จากปลาแซลมอนที่เป็นโรค (Stiles and Holzapfel, 1997)

3) ***Lactococcus*** เซลล์มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 - 1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลกติกชนิด L (+) จากการหมักกลูโคส มักใช้เป็นกล้าเชื้อ (Starter) ในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 °C แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 °C พบในแหล่งต่าง ๆ เช่น ผักกาด ถั่ว หญ้า มันฝรั่ง น้ำนมดิบ ปัจจุบันประกอบด้วย 5 ชนิด ได้แก่ *Lc. lactis* ssp. *lactis* , *Lc. lactis* ssp. *cremoris, Lc. lactis* ssp. *hordniae, Lc. garvieae, Lc. raffinolactis,* และ *Lc. piscium* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 34 – 43 % (Teuber, 1995)

4) ***Enterococcus*** เซลล์มีรูปไข่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 - 1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายโซ่สั้น ๆ ผลิตกรดแลกติกชนิด L (+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักกลูโคส ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญเติบโต สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 45 °C บางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์คะตะเลสเทียมได้ และบางชนิดทำให้เกิดโรค ปัจจุบันประกอบด้วย 5 ชนิด ได้แก่ *E. faecalis, E. faecium, E. avium, E. galinarum,* และ *E. cecorum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 37 – 40 % (Derviese and Pot, 1995)

5) ***Pediococcus*** เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.36 – 1.43 ไมครอน แบ่งตัวลักษณะ 2 ทางบนระนาบเดียวกัน โดยแบ่งตัวครั้งที่ 2 ในทิศด้านขวามือของครั้งแรก ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็น 4 เซลล์ติดกันคล้ายจัตุรัส (tetrad formation) ในสภาวะไร้อากาศ ผลิตกรดแลกติกชนิด DL และ L(+) จากการหมักกลูโคส บางชนิดทำให้เบียร์และไวน์เสีย ปัจจุบันประกอบด้วย 6 ชนิด ได้แก่ *P. acidilactici, P. damonosus, P. dextrinicus, P. inopinatus, P. parvulus* และ *P. pentosaceus* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 34 – 44 % (Simpson and Taguchi, 1995)

6) ***Tetragenococcus*** มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือนสกุล *Pediococcus* เนื่องจากเดิมคือ *P. halophilus* ซึ่งจัดจำแนกใหม่จากการเจริญในอาหารซึ่งมีเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 % และมีลำดับเบสบน 16s rRNA ใกล้เคียงกับเชื้อสกุล *Enterococcus* และ *Carnobacterium* มากกว่าสกุลเดิม (Simpson and Taguchi, 1995)

7) ***Aeromonas*** มีลักษณะการแบ่งตัวเหมือนสกุล *Pediococcus* ประกอบด้วย 2 ชนิดคือ *A. viridans* และ *A. urinae* ซึ่งเปลี่ยนแปลงจาก *P. homari* และ *P. urinaeequi* ตามลำดับ โดย *A. viridans* ทำให้กุ้งลอบเตอร์ (lobster) เกิดโรคและเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในมนุษย์ (Stiles and Holzapfel, 1997)

8) *Leuconostoc* เซลล์มีสัณฐานวิทยาขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารซึ่งมีกลูโคส เซลล์มีลักษณะยืดออกคล้ายกลุ่ม lactobacilli แต่ในน้ำนมเซลล์จะมีรูปร่างกลม การจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่สั้นถึงปานกลาง ผลิตกรดแลกติกชนิด D (-) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์และสารหอมระเหยจากการหมักกลูโคส (heterofermentative) จึงช่วยสร้างกลิ่นรสในอาหารหมักดอง ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญเติบโต ปัจจุบันประกอบด้วย 8 ชนิด ได้แก่ *Leuc. mesenteroides, Leuc. lactis, Leuc. gelidum, Leuc. carmosum, Leuc. citreum, Leuc. pseudomesenteroides, Leuc. argentinum,* และ *Leuc. fallax* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 37 – 40 % (Dellaglio *et al.*, 1995)

9) *Oenococcus* สกุลนี้มีเพียงชนิดเดียว คือ *Oenococcus oeni* ซึ่งเปลี่ยนมาจาก *Leuc. oenos* ด้วยสมบัติการทนต่อกรดและเอทานอลปริมาณสูง รวมทั้งข้อมูลทางพันธุกรรมจากดีเอ็นเอ : ดีเอ็นเอไฮบริไดเซชั่น และลำดับเบสของ 16 s rRNA ต่างจากชนิดอื่นในสกุล *Leuconostoc* อย่างชัดเจน (Dellaglio *et al.*, 1995)

10) *Weissella* รูปร่างเซลล์เป็นแท่งและกลม ซึ่งมีลักษณะคล้าย *Leuconostoc* (Leuconostoc - like bacteria) เป็นชนิดซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* ปัจจุบันประกอบด้วย 7 ชนิด ได้แก่ *Leuc. paramesenteroides* (*W. paramesenteroides*), *Lactobacillus confuses* (*W. confuses*), *Lb. halotolerans* (*W. halotolerans*), *Lb. kandleri* (*W. kandleri*), *Lb. minor* (*W. minor*), *Lb. viridescens* (*W. viridescens*) และชนิดใหม่ซึ่งแยกได้จากไส้กรอกหมัก คือ *W. hellenica* (Stiles and Holzapfel, 1997)

11) *Carnobacterium* เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งตรงขนาดสั้นถึงปานกลาง หรือท่อนเรียว (slander rod) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 – 0.7 ไมครอน และยาว 1.1 – 3.1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแลกติกชนิด L (+) คาร์บอนไดออกไซด์ แอซีเทต และเอทานอลจากการหมักน้ำตาลเฮกโซส มีทั้งสิ้น 6 ชนิด คือ *C. divergens, C. piscicola, C. gallinarum, C. mobile, C. funditum* และ *C. alterfunditum* มีโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ระหว่าง 31.6 – 37.2 % (Stiles and Holzapfel, 1997)

12) ***Lactobacillus*** เป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมีและสรีระ เนื่องจากความแตกต่างของโมเลกุลเปอร์เซ็นต์ G + C ภายในสูงสุดคือระหว่าง 32 – 53 % (Axelsson, 1998) พบในแหล่งต่าง ๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์ พบในสัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางชนิดเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ (Adam, 1995) เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนกลม (coccobacilli) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ ประกอบด้วย 55 ชนิด (Stiles and Holzapfel, 1997)

6. ความสำคัญของการใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสุกร

การเลี้ยงสุกรที่ต้องเร่งผลผลิตในพื้นที่ที่จำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทยที่เป็นประเทศในเขตร้อนมีการแพร่ของโรคติดเชื้อสูง ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อการป้องกัน (subtherapeutic) และการรักษา (therapeutic) มีมากขึ้น นอกจากนี้ยังได้นำยาปฏิชีวนะมาเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในอาหารสัตว์ (Antibiotic Growth Promotor, AGP) มานานกว่า 50 ปีแล้ว และการผลิตสุกรของประเทศไทยในปี 2543 มีถึง 10 ล้านตัว จึงมีการนำเข้าของผลิตภัณฑ์ AGP เป็นมูลค่า 796 ล้านบาท (รายงานประจำปี 2543 สมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์แห่งประเทศไทย) ซึ่งเห็นได้ว่า มีการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นปริมาณมากในประเทศไทย

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการใช้ยาปฏิชีวนะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการควบคุมโรคของสุกรได้เป็นอย่างดี โดย Yen และคณะ (1987) ได้ทดลองใช้ neomycin และ carbadox เพื่อลดปัญหาโรคท้องเสียในสุกร โดยใช้ในระดับต่ำกว่าการรักษาเสริมในอาหาร ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารสมรรถนะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Hill (1995) เสริม chlortetracycline ในอาหารลูกสุกรหลังหย่านม ทำให้น้ำหนักตัว อัตราการแลกเนื้อดีกว่ากลุ่มควบคุม

ในช่วงที่ผ่านมาการที่มุ่งเน้นการใช้ยาปฏิชีวนะจนกระทั่งละเลยการเอาใจใส่ แก้ไขสภาพการจัดการควบคู่กันไป หรือการใช้ยาไม่ถูกวิธีในการใช้ยาเสริมในอาหารเป็นปริมาณที่มากและระยะเวลานานตั้งแต่สุกรเล็กจนกระทั่งถึงสุกรขุน ก่อให้เกิดเชื้อโรคดื้อยา ยาที่ใช้เริ่มไม่ได้ผลอีกต่อไป ต้องมีการเปลี่ยนชนิดยา ซึ่งเป็นการเพิ่มภาระต้นทุนแก่เกษตรกรแก่ผู้เลี้ยง ธนาคารและคณะ (2545) ได้สำรวจการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อ *E. coli* ที่พบในลูกสุกรท้องเสียในช่วงก่อนหย่านมในฟาร์มสุกรจังหวัดขอนแก่น ตารางที่ 4 พบว่าฟาร์มที่มีการใช้ยาต้านจุลชีพผสมในอาหารมีเปอร์เซนต์ของการดื้อต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิด (ยกเว้น โคลิสติน) สูงกว่า ($p<0.01$) ฟาร์มที่ไม่ใช้ยาต้านจุลชีพผสมในอาหาร เชื้อ *E. coli* ดื้อต่อยา trimethoprim sulphamethoxate และ amoxicillin มากที่สุด ซึ่งการดื้อยาอาจมาจากการถ่ายทอดเชื้อที่มีการดื้อยาจากแม่สู่ลูกสุกร

เนื่องจากมีการใช้ยาสองชนิดนี้ ฉีดและผสมในอาหารในสุกรโตและสุกรเล็ก เพื่อการรักษาและควบคุมโรคท้องร่วงและโรคติดเชื้ออื่น ๆ ในฟาร์มติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน (Webster, 1990; Agerso *et al*.. 1998: Markowska- Daniel and Pejsak, 1999)

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์ของตัวอย่างมูลสุกรที่พบการดื้อยาของเชื้อ *E. coli*

ชนิดยา	การใช้ยาผสมอาหาร	
	ใช้[1]	ไม่ใช้[2]
โคลิสติน	-	5.17
นอร์ฟรอกซาซิน	46.67	22.41
เอมมอกไซคลิน	89.33	70.69
ไตรเมทโทปริม ซัลฟาเมทโทเสท	89.33	38.97
เจนตามัยซิน	41.33	8.62

ที่มา : ธนาคาร และคณะ (2545)

[1]150 ตัวอย่าง [2]58 ตัวอย่าง

Arora และ Kaur (1999) ได้รายงานว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะ *E. coli* มีการต้านต่อยาปฏิชีวนะ amoxicillin, erythromycin, sulphamethoxazole และ avopacin (สำนักคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) Swann (1969) ได้รายงานว่าการใช้ AGP ในอาหารจะทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ เนื่องจากการถ่ายทอดยีนดื้อยาต่อแบคทีเรียจากสัตว์ที่ได้รับยาและไม่มีการถอนยาก่อนนำมาบริโภค สหภาพยุโรปได้ออกกฎห้ามการใช้ยาปฏิชีวนะเพิ่มเติม ได้แก่ flavophospholypol, salinomycin และ avilamycin ซึ่งใช้เป็น AGP ในอาหารสุกร เนื่องจากเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เชื้อเกิดการดื้อยาและทำให้เกิดโรคท้องร่วงจาก *E. coli* ในลูกสุกรได้ง่ายขึ้น (Mateos *et al*., 2000)

นอกจากปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นแล้ว ยังพบปัญหาของสารตกค้างของสารเคมีและยาที่นำมาใช้เป็น AGP เช่น chloramphenicol ที่ตกค้างในร่างกายนานและทำให้เกิดเป็นโรคโลหิตจาง สารกลุ่มเบต้าอะโกนิสต์ ที่มีผลต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ สารเคมีสังเคราะห์ที่มีแนวโน้มก่อโรคมะเร็ง ได้แก่ กลุ่มยา nitrofuran (สำนักงานกรรมการอาหารและยา, 2545) การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์จึงเริ่มเป็นที่รังเกียจและต้องห้ามในหลายประเทศโดยเฉพาะประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศแถบยุโรปที่เริ่มมีการตื่นตัวตั้งแต่ปี 1998

โดยลดการเติมสารที่เป็น AGP ในอาหารสุกรน้ำหนัก 35 กก.ขึ้นไป และปี 2000 ได้ลดยาปฏิชีวนะและสารเคมีสังเคราะห์ลงเพื่อผลิตเนื้อสุกรปลอดภัย ภายในปี 2006 จะยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะทั้งหมดโดยเด็ดขาด (Anonymous, 2000) ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์กลายเป็นประเด็นทางการค้าที่ประเทศคู่ค้าจำต้องปฏิบัติตามในการถอนยาต้องห้ามทั้งหมด และประเทศไทยในฐานะประเทศที่มีการส่งออกของผลิตภัณฑ์เกษตรเป็นอันดับต้นของโลก จำเป็นที่จะต้องปรับปรุงแก้ไขระบบการผลิต เพื่อให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้าและผลิตเนื้อสัตว์ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ผู้ผลิตจะต้องผลิตสัตว์เพื่อการบริโภคโดยใช้ยาปฏิชีวนะกระตุ้นการเจริญเติบโต (AGP) ให้น้อยที่สุด ในการใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงสุกรเล็กซึ่งถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของวงจรการผลิต และมีปัญหาด้านสุขภาพมากที่สุดที่อาจส่งผลระยะยาวถึงสุกรขุนได้

ยาปฏิชีวนะบางชนิด เช่น tetracycline และ chloramphenicol มีการผสมลงในอาหารสัตว์ จะทำให้สัตว์เติบโตได้เร็วกว่าปกติรวมทั้งเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำนม ในระยะเวลาต่อมาจึงปรากฏว่ามีการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นอาหารเสริม เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์เลี้ยงอย่างกว้างขวาง ซึ่งบ่อยครั้งเกิดปัญหาขึ้น เนื่องจากการควบคุมที่ไม่ดีพอ การใช้ปริมาณมากเกินกว่าที่กำหนด การใช้นานเกินไปโดยไม่มีการหยุดใช้ยาก่อนฆ่า เป็นต้น ทำให้เกิดการตกค้างในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเชื้อดื้อยาที่ใช้ยาบางชนิดขึ้น โดยเชื้อบางชนิดอาจทำให้เกิดโรคในคน จึงทำให้เกิดปัญหาการรักษาในภายหลัง นอกจากนี้การที่สัตว์ได้รับยาปฏิชีวนะบ่อยเกินไปทำให้เสียสมดุลของเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ ความผิดปกติสามารถก่อผลร้ายต่อสัตว์ได้ ดังนั้นจึงต้องหาสิ่งมาทดแทนในลักษณะเดียวกันคือ โปรไบโอติก ปรากฏว่าใช้เป็นสิ่งเสริมในอาหารสัตว์ที่ให้ประโยชน์ได้เช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะ แต่ไม่ก่อให้เกิดการตกค้างและการดื้อยาตามมา (สุวณีย์, 2536) ความแตกต่างของสารยับยั้งที่แบคทีเรียแลกติกสร้างขึ้นกับยาปฏิชีวนะแสดงดังตารางที่ 5

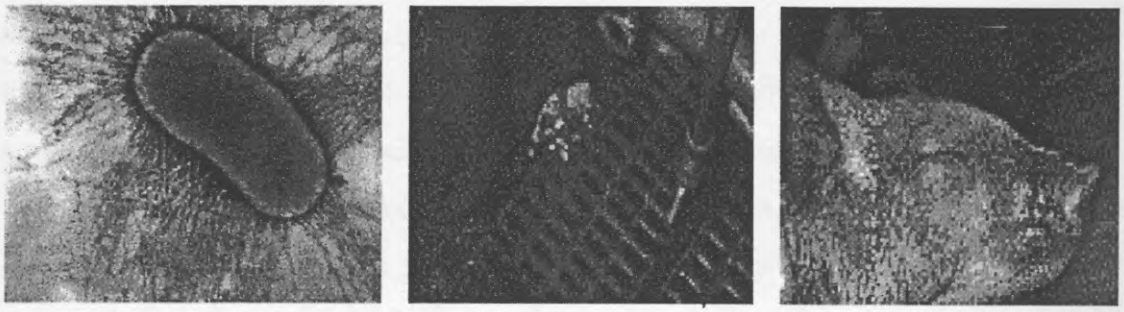
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสารยับยั้ง (inhibitory substance) ที่สร้างจากแบคทีเรียแลกติกกับยาปฏิชีวนะ (antibiotic)

สมบัติ	สารยับยั้ง	ยาปฏิชีวนะ
การประยุกต์ใช้	อาหาร	การแพทย์
การสังเคราะห์	primary metabolite หรือ secondary metabolite	secondary metabolite
การดูดซึมในทางเดินอาหาร	ไม่มี	มี
การตกค้างในเนื้อเยื่อ	ไม่มี	มี
การกลายพันธุ์หรือดื้อยา	ไม่เกิด	เกิด
แหล่งที่สร้าง	จุลินทรีย์	จุลินทรีย์ หรือสังเคราะห์ทางเคมี
ประเภทของสาร	โปรตีน เช่น bacteriocin, สารอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น reuterin	โปรตีน, สารอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น tetracycline และ chloramphenicol เป็นต้น
กิจกรรม	ให้ฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อเฉพาะที่ของร่างกาย เช่น ระบบทางเดินอาหาร	ให้ฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อได้ทั่วร่างกาย และออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่าง ๆ ได้มากชนิด
กลไกการทำงาน	เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำให้สูญเสียความสามารถในการนำสารผ่านเข้าออก	ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ DNA RNA และโปรตีน

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cleveland และคณะ (2001)

7. โรคท้องร่วงในสุกรที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* (Sussman , 1985)

Enteric colibacillosis เป็นกลุ่มอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ชนิดที่อยู่ในกลุ่ม ETEC แบ่งกลุ่มอาการออกเป็น 2 ชนิด โดยแบ่งตามชนิดของ toxin ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น



ก. เชื้อ *E. coli* โดยกล้องจุลทรรศน์ ข. มูลสุกรที่เกิดจากโรคท้องร่วง ค. ลักษณะหนังตาบวม

รูปที่ 3 เชื้อ *E. coli* ที่ก่อให้เกิดลักษณะอาการท้องร่วงและอาการบวมน้ำในสุกร (Sussman , 1985)

7.1 Colibacillary diarrhea เป็นโรคอุจจาระร่วงจะพบเสมอโดยเฉพาะในระยะกินนม มีลักษณะเด่นคือ อุจจาระเหลวจำนวนมาก ในสุกรปกติจะพบเชื้อ *E. coli* เป็นจำนวนมากในลำไส้ใหญ่ และจะไม่พบในลำไส้เล็กเลย ถ้าพบก็มีจำนวนน้อยมาก ประมาณ 10^{3} -10^{4} /gm ileal mucosal scraping เมื่อสุกรป่วยจะพบ จำนวน *E. coli* ชนิด ETEC นี้เพิ่มจำนวนเป็น 10^{7}-10^{9}/gm ileal mucosal scraping ในลำไส้ โดยไม่รุกล้ำเข้าไปในอวัยวะอื่นของร่างกาย *E. coli* กลุ่ม ETEC นี้ เติบโตอย่างรวดเร็วในลำไส้เล็ก ในขณะเดียวกันก็สร้าง toxin ที่เรียกว่า enterotoxin มีผลให้ร่างกายสูญเสียน้ำเป็นจำนวนมหาศาล รวมทั้ง electrolyte ก็ถูกขับออกมาคั่งอยู่ในลำไส้เล็กเกินความสามารถที่ลำไส้เล็กจะดูดซึมกลับเข้าไปได้ จึงเห็นอุจจาระเหลวสีเหลืองอ่อนเป็นน้ำไหลออกมา และเมื่อไหลออกมาในอัตราที่เร็ว ทำให้สุกรเกิดสภาพ acidosis เพราะ electrolyte ที่สูญเสียออกไปคือ alkaline ดังนั้นสภาพของอุจจาระเหลวนั้นจึงเป็นด่าง ลูกสุกรจะมีอาการกระหายน้ำ และพยายามดูดนมจากแม่ จนกระทั่งอ่อนแรงไม่มีกำลังที่จะดูดนมแม่ต่อไป

เมื่อลำดับกระบวนเกิดอาการดังข้างต้นนี้พบว่าเชื้อ *E. coli* ชนิด ETEC นี้สามารถเกาะติดผนังลำไส้เล็กได้ รอดพ้นจากระบบ peristalsis ของลำไส้ ซึ่งจะพยายามขับสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกาย แบคทีเรียใช้ส่วนของ pili ซึ่งพบอยู่รอบ ๆ ตัวแบคทีเรียเกาะกับ villi ของลำไส้ และบน pilli ของพวก ETEC นี้ จะมีปุ่มหรือส่วนพิเศษที่ *E. coli* สายพันธุ์ธรรมดาไม่มี เรียกว่า adhesin ส่วนนี้เองที่จะทำให้แบคทีเรียสามารถเกาะยึดแน่นกับผนังของลำไส้โดยไม่ถูกขับออกไป

adhesin นี้คือ K88 ,K99 , 987P , และ F 41 นั้นเอง เมื่อเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC เกาะติดผนังลำไส้ได้แล้ว (colonization) ก็เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยไม่รุกล้ำเข้าไปในอวัยวะอื่น ลูกสุกรที่ท้องเสียด้วยเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC นี้จะสามารถถ่ายเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC ถึงหนึ่งล้านเซลล์ต่ออุจจาระเหลวหนึ่งมิลลิลิตร

E. coli กลุ่ม ETEC จำนวนมากนี้จะผลิต toxin ออกมา เรียกว่า enterotoxin หรือ exotoxin มี 2 ชนิด คือ heat stable (ST) enterotoxin และ heat labile (LT) enterotoxin ทั้งนี้ควบคุมโดย transmissible plasmid และ enterotoixn นี้เองที่ทำให้เกิดการผิดปกติของระบบ cAMP (cyclic adenosine monophosphate) และ cGMP (cyclic guanosine monophosphate) ในร่างกาย

E. coli กลุ่ม ETEC เกือบทุกสายพันธุ์สามารถผลิต ST toxin ได้อย่างเดียว มีบาง strain เท่านั้นที่สามารถผลิตได้ทั้ง ST และ LT toxin (LT มีคุณสมบัติเป็นantigen ได้ดีกว่า ST) Toxin เป็นสิ่งจำเป็นมากที่ทำให้สัตว์มีอาการท้องร่วง ลำพังแต่เชื้อ *E. coli* เกาะผนังลำไส้ (colonization) อย่างเดียวจะไม่ทำให้เกิดอาการเหล่านั้น

7.2 Colibacillary toxaemia ต่างกับกลุ่มที่ 1 คือ *E. coli* กลุ่ม ETEC จะผลิต endotoxin และ toxin นี้จะถูกดูดซึมเข้าไปอย่างรวดเร็วในลำไส้เล็กทำให้ลูกสุกรตายอย่างกระทันหัน โดยไม่แสดงอาการ พบมากในสุกรแรกเกิด เนื่องจากระดับของ endotoxin ที่มีอยู่สูงมากกว่าระดับของ enterotoxin จึงทำให้สัตว์ตายก่อนแสดงอาการท้องร่วง เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด edema disease ในสุกรกำลังหย่านม หรือหลังหย่านม endotoxin ที่แบคทีเรียผลิตขึ้นนี้เป็น cell envelope lipopolysaccharide (LPS) ของเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ cell wall ของแบคทีเรีย ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ lipid A, Core oligiosaccharide และ O-specific polysaccharide ดังนั้น endotoxin เป็น biological product ของเชื้อ *E. coli* ที่เกิดจากการฉีกขาดของผนัง cell wall ของแบคทีเรีย

8. การใช้โปรไบโอติกในสุกร

Lyons (1987) ทดลองเสริมโปรไบโอติกหรือเปปไทด์ (โปรตีนที่ถูกย่อยแล้ว) หรือเสริมทั้งสองชนิดร่วมกันให้กับลูกสุกรแรกคลอดจนถึงระยะหย่านม ผลปรากฏว่าการเสริมเปปไทด์หรือโปรไบโอติกอย่างเดียว จะช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้น แต่ถ้าเสริมทั้งสองอย่างร่วมกัน จะช่วยลดอัตราการตายอันเนื่องมาจากท้องร่วง และทำให้สมรรถภาพในการผลิตดีขึ้น ดังตารางที่ 6

adhesin นี้คือ K88 ,K99 , 987P , และ F 41 นั้นเอง เมื่อเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC เกาะติดผนังลำไส้ได้แล้ว (colonization) ก็เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยไม่รุกล้ำเข้าไปในอวัยวะอื่น ลูกสุกรที่ท้องเสียด้วยเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC นี้จะสามารถถ่ายเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC ถึงหนึ่งล้านเซลล์ต่ออุจจาระเหลวหนึ่งมิลลิลิตร

E. coli กลุ่ม ETEC จำนวนมากนี้จะผลิต toxin ออกมา เรียกว่า enterotoxin หรือ exotoxin มี 2 ชนิด คือ heat stable (ST) enterotoxin และ heat labile (LT) enterotoxin ทั้งนี้ควบคุมโดย transmissible plasmid และ enterotoixn นี้เองที่ทำให้เกิดการผิดปกติของระบบ cAMP (cyclic adenosine monophosphate) และ cGMP (cyclic guanosine monophosphate) ในร่างกาย

E. coli กลุ่ม ETEC เกือบทุกสายพันธุ์สามารถผลิต ST toxin ได้อย่างเดียว มีบาง strain เท่านั้นที่สามารถผลิตได้ทั้ง ST และ LT toxin (LT มีคุณสมบัติเป็นantigen ได้ดีกว่า ST) Toxin เป็นสิ่งจำเป็นมากที่ทำให้สัตว์มีอาการท้องร่วง ลำพังแต่เชื้อ *E. coli* เกาะผนังลำไส้ (colonization) อย่างเดียวจะไม่ทำให้เกิดอาการเหล่านั้น

7.2 Colibacillary toxaemia ต่างกับกลุ่มที่ 1 คือ *E. coli* กลุ่ม ETEC จะผลิต endotoxin และ toxin นี้จะถูกดูดซึมเข้าไปอย่างรวดเร็วในลำไส้เล็กทำให้ลูกสุกรตายอย่างกระทันหัน โดยไม่แสดงอาการ พบมากในสุกรแรกเกิด เนื่องจากระดับของ endotoxin ที่มีอยู่สูงมากกว่าระดับของ enterotoxin จึงทำให้สัตว์ตายก่อนแสดงอาการท้องร่วง เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิด edema disease ในสุกรกำลังหย่านม หรือหลังหย่านม endotoxin ที่แบคทีเรียผลิตขึ้นนี้เป็น cell envelope lipopolysaccharide (LPS) ของเชื้อ *E. coli* กลุ่ม ETEC ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ cell wall ของแบคทีเรีย ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ lipid A, Core oligiosaccharide และ O-specific polysaccharide ดังนั้น endotoxin เป็น biological product ของเชื้อ *E. coli* ที่เกิดจากการฉีกขาดของผนัง cell wall ของแบคทีเรีย

8. การใช้โปรไบโอติกในสุกร

Lyons (1987) ทดลองเสริมโปรไบโอติกหรือเปปไทด์ (โปรตีนที่ถูกย่อยแล้ว) หรือเสริมทั้งสองชนิดร่วมกันให้กับลูกสุกรแรกคลอดจนถึงระยะหย่านม ผลปรากฏว่าการเสริมเปปไทด์หรือโปรไบโอติกอย่างเดียว จะช่วยให้การเจริญเติบโตดีขึ้น แต่ถ้าเสริมทั้งสองอย่างร่วมกัน จะช่วยลดอัตราการตายอันเนื่องมาจากท้องร่วง และทำให้สมรรถภาพในการผลิตดีขึ้น ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมโปรไบโอติกหรือเปปไทด์หรือเสริมทั้งสองชนิดร่วมกัน ให้กับลูกสุกรแรกคลอดจนถึงหย่านม

	กลุ่มควบคุม	peptides	probiotics	peptides + probiotics
จำนวนลูกสุกร	471	480	484	499
อัตราการเจริญเติบโต	186	195	207	221
อัตราการตายทั้งหมด (ตัว)	11.7	12.7	11.5	8.4
- ตายเนื่องจากท้องร่วง	6.7	7.3	5.9	5.2
- ตายด้วยสาเหตุอื่น	5.0	5.4	5.6	3.2

ที่มา : ดัดแปลงจาก Lyons (1987)

วิโรจน์ (2522) ทำการทดลองคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่สามารถเจริญอยู่ในลำไส้ของสุกรได้ และทำให้สุกรเจริญเติบโตได้ดีจากแบคทีเรียแลกติก 7 ชนิด โดยให้สุกรกินเชื้อปริมาณ 40 ล้านเซลล์/ตัว/วัน เป็นระยะเวลา 7 วัน และทำการตรวจปริมาณแบคทีเรียแลกติกในมูลสุกร พบว่าแบคทีเรียแลกติก No. 9 (*Lactobacillus* spp. ที่แยกได้จากนมเปรี้ยว) และ *Lactobacillus buchneri* สามารถเจริญอยู่รอดในลำไส้และมีผลต่อการเจริญเติบโตของสุกร

วิลาวัณย์ (2524) ทดลองแยกเชื้อ *Lactobacillus* spp. จากแหล่งต่าง ๆ ได้รวมทั้งสิ้น 329 ไอโซเลท คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติตามความต้องการได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus* I9, K2, N1, P6, T20 และ T21 ซึ่งแยกจากมูลสุกร และเทียบเคียงชนิดว่าเป็น *L. plantarum* เชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์มีคุณสมบัติคือ มีชีวิตรอดในสภาวะที่เป็นกรดใน pH ต่ำถึง 2.6 และทนต่อเกลือน้ำดีร้อยละ 15 ไม่ว่าจะอยู่ในช่วงใดของการเจริญ สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ซึ่งสร้าง β – hemolysin และมีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะหลายชนิด ซึ่งความสามารถในการยับยั้งนี้เกิดจากผลร่วมระหว่างกรดแลกติกและสารอื่นที่เชื้อสร้างขึ้น ซึ่งเป็นสารที่ทนความร้อน 100 °C เป็นเวลา 10 นาทีได้

พรเทพ และคณะ (2532) ได้ทดลองเสริมโปรไบโอติกร่วมกับเอนไซม์ในอาหารลูกสุกรในสภาวะที่สภาพการจัดการและสุขภาพของลูกสุกรแตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมโปรไบโอติกร่วมกับเอนไซม์ในอาหารลูกสุกรที่มีการติดเชื้อ TGE virus ในคอกคลอดทำให้ผลการตอบสนองที่ดีกว่าในกลุ่มที่ไม่ได้เสริมเฉพาะในลุกสุกรที่มีอายุน้อย (อายุ 4 สัปดาห์) แต่การทดลองเสริมในอาหารลูกสุกรที่มีอายุ 7 สัปดาห์นั้น สมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การเสริมสารโปรไบโอติกร่วมและแยกกับเอนไซม์ เปรียบเทียบกับการไม่เสริมในอาหารลูกสุกรหย่านม 4 สัปดาห์ที่มีสุขภาพดีนั้น ลูกสุกรแต่ละกลุ่มมีสมรรถภาพการผลิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ชุมพร และคณะ (2534) ทดลองใช้สารเสริมชีวนะ *Streptococcus faecium* Cornellle 68 (SF68) ในการรักษาอาการท้องเสีย SF68 มีข้อบ่งชี้ว่าใช้รักษาอาการท้องเสียที่มีสาเหตุจาก enterotoxigenic *E. coli* และ *Vibrio cholerae* แต่ถ้าเกิดจากเชื้อตัวอื่นจะให้ผลน้อย (Jones and Thomas, 1987) ในการทดลองลดอัตราการตายและเพิ่มน้ำหนักในลูกสุกรก่อนหย่านม จำนวน 518 ตัว โดยการป้อน SF68 ทางปาก 2 ครั้ง ในวันที่ 1 และวันที่ 7 หลังคลอด ครั้งละ 1 ml พบว่าอัตราการตายของกลุ่มทดลองเท่ากับ 8.3 % ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 2.64 % และน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อหย่านมของกลุ่มทดลองเท่ากับ 5.09 kg สูงกว่ากลุ่มควบคุม 4.14 % ส่วนการทดลองใช้สารเสริมชีวนะรักษาอาการท้องเสียในลูกสุกรหย่านม 327 ตัว โดยป้อนตัวละ 2 ml เปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่ากลุ่มทดลองให้ผลการรักษาหายหลังจากให้ SF68 1, 2 และ 3 ครั้งเท่ากับ 36.92, 81.02 และ 93.84 % ดีกว่ากลุ่มที่ให้ยาปฏิชีวนะ 1, 2 และ 3 ครั้งซึ่งเท่ากับ 20.45, 58.33 และ 87.88 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นวลจันทร์ และอุทัย (2534) ซึ่งได้ทำการทดลองเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกร่วมกับเอนไซม์ต่อการย่อยได้ของสารอาหารในระยะลูกสุกรหย่านม ผลพบว่าการเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกร่วมกับเอนไซม์มีผลทำให้ค่าการย่อยได้ของอาหารและโปรตีนสูงกว่ากรณีที่ไม่ได้เสริม และการเสริมในระดับ 0.2 % ให้ผลตอบสนองดีกว่าที่ระดับ 0.1 % และจากการเสริมสารดังกล่าวในระดับ 0.05, 0.1 และ 0.2 % ในอาหารลูกสุกรหย่านมซึ่งมีการลดระดับโปรตีนลงจาก 20 % เหลือ 18 % เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหาร 20 % โปรตีน ปรากฏว่าการเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกร่วมกับเอนไซม์ในระดับ 0.2 % ในอาหารที่มีระดับโปรตีน 18 % มีประสิทธิภาพการผลิตทัดเทียมกับกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีน 20 % ซึ่งลดต้นทุนค่าอาหารลงได้โดยไม่ทำให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเปลี่ยนน้ำหนักเลวลง

วันดี (2536) ได้ทดลองเสริมโปรไบโอติกในรูปของสปอร์ของบาซิลลัส โตโยอิ (*Bacillus toyoi*) ที่มีความเข้มข้น 1×10^9 สปอร์ต่อกรัม ในระดับต่าง ๆ กันคือ 0, 0.05, 0.1, 0.2 % ในอาหารลูกสุกรหย่านมอายุ 4 สัปดาห์ที่มีโปรตีน 18 % เปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่มีระดับโปรตีน 20 % และไม่เสริมโปรไบโอติก โดยอาหารทุกสูตรปรับให้มีระดับกรดอะมิโนที่จำเป็นเท่ากัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมโปรไบโอติกในระดับ 0.2 % ในอาหารที่มีโปรตีน 18 % มีแนวโน้มทำให้ลูกสุกรมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มอื่น ๆ และประสิทธิภาพการใช้อาหารใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับโปรตีน 20 % ไม่มากนัก

วันดี และขวัญชาติ (2536) ได้ทดลองเสริมโปรไบโอติกในระดับต่าง ๆ โดยใช้อาหารทดลองดังนี้ กลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีระดับโปรตีนในอาหารเท่ากับ 16 % ในระยะสุกรรุ่นและ 14 % ในระยะสุกรขุน ส่วนกลุ่มที่ 2, 3 , 4 และ 5 เป็นกลุ่มที่มีการลดระดับโปรตีนในอาหารลง 2 % แล้วเสริมโปรไบโอติกในระดับ 0, 0.05, 0.1 และ 0.2 % ในระยะสุกรรุ่น และ 0, 0.03, 0.05 และ 0.1 % ในระยะสุกรขุน ผลการทดลองแสดงว่าในระยะสุกรรุ่นและสุกรขุน การเสริมโปรไบโอติกในระดับ 0.1 % ในอาหารที่มีการลดระดับโปรตีนลงเหลือ 14 % มีต้นทุนการผลิตต่ำสุด แม้ว่าความแตกต่างที่เกิดขึ้นไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในระยะสุกรขุนการเสริมโปรไบโอติก ในระดับ 0.03 – 0.05 % ในอาหารที่มีโปรตีน 12 % ไม่มีผลทำให้สมรรถภาพการผลิตดีกว่ากลุ่มอื่น แต่ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหาร 14 % ที่ไม่มีการเสริมสารโปรไบโอติก

Collington และคณะ (1990) ศึกษาผลของยาปฏิชีวนะและแบคทีเรียโปรไบโอติกในการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของเอนไซม์ในลำไส้เล็กของสุกร โดยทำการเลี้ยงสุกรด้วยอาหารพื้นฐานโดยไม่มีการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต (กลุ่มที่ 1), อาหารที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะ tyrosin 40 มิลลิกรัม/กก. (กลุ่มที่ 2) และอาหารเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติก Probios ® ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum, L. acidophilus, L. casei* และ *Streptococcus faecium* 10^7 CFU/g เป็นเวลา 7, 17, 42 และ 80 วัน พบว่าทั้งแบคทีเรียโปรไบโอติกและยาปฏิชีวนะให้ผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ Sucrase (sucrase α – D-glucohydrolase ; *EC* 3.2.1.48), lactase (β -D- galactoside galactohydrolase ; *EC* 3.2.1.23), และ tripeptidase (*EC* 3.4.11.4) ก่อนหย่านม แต่ไม่มีผลต่อเอนไซม์ dipeptidase (*EC* 3.14.13.11)

Blomberg และคณะ (1993) พบว่า *L. plantarum* 104R ซึ่งแยกจากกระเพาะสุกร สามารถยับยั้งการยึดเกาะของ *E.coli* K 88 บนเยื่อเมือกลำไส้เล็กส่วน ileum ของลูกสุกรได้ คิดเป็นร้อยละ 50 โดยการผลิตสารประกอบโปรตีน ที่มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 80 °C แต่ถูกทำลายด้วยโปรเนส สารประกอบโปรตีนจะไปจับกับองค์ประกอบของเยื่อเมือก จึงขัดขวางการเข้าจับโดย K88ab และ K88ac fimbriae ของ *E. coli* K88

Fumiaki และคณะ (1995) ศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกในลูกสุกรจำนวน 328 ตัว โดยเปรียบเทียบกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่มีการให้อาหารเสริมโปรไบโอติก *Bifidobacterium pseudolongum* M 602 หรือ *Lactobacillus acidophilus* LAC 3×10^8 CFU/day/ตัวลูกสุกรระยะดูดนม(0-28 วัน) และ 3×10^9 CFU/day/ตัวลูกสุกรระยะหย่านม (28-56 วัน) เป็นระยะเวลา 56 วัน พบว่าน้ำหนักตัวของลูกสุกรในกลุ่มที่มีการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้งสองชนิดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่มีการเสริมด้วยแบคทีเรียโปรไบโอติก *B. pseudolongum* ให้ผลดีกว่ากลุ่มที่มีการเสริมด้วยแบคทีเรียโปรไบโอติก *L. acidophilus* และการเสริมอาหารแบคทีเรียโปรไบโอติกในระยะดูดนมให้ผลดีกว่าในระยะหย่านม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกในลูกสุกรแรกเกิด โดยแบ่งเป็นสองกลุ่ม ๆ ละ 20 ตัว คือ กลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่มีการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติก *Bifidobacterium thermophilum* S-501 1×10^{10} CFU/day/ตัวและ *B. animalis* M 95 1×10^{10} cfu/day/ตัว เป็นเวลา 28 วันโดยไม่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ พบว่าสุกรที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้งสองชนิดมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยมีอัตราการรอดชีวิต 95% ในขณะที่กลุ่มควบคุมพบการตายของลูกสุกรเกิดขึ้นหลัง 14 วันและเมื่อครบ 28 วันเหลืออัตราการรอดชีวิตแค่ 75 %

Toit และคณะ (1998) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลกติกจากมูลสุกร จำนวน 297 สายพันธุ์ มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก ได้แก่ ความสามารถในการเกาะติด ความสามารถในการทนเกลือน้ำดี, ความสามารถในการทนกรด และการสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น (antimicrobial substannce) จากนั้นบ่งชี้ชนิดโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี DNA-DNA hybridization พบว่าเป็นสายพันธุ์ *Lactobacillus johnsonii* และ *Lactobacillus reuteri* และพบว่า *L. johnsinii* BFE 1061 สามารถสร้างแบคเทอริโอซินยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นรวมทั้ง *Clostridium perfringens* หลังจากนั้นได้เลี้ยงสุกรด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของโปรไบโอติก *Lactobacillus* 2×10^{12} CFU / ตัว / วัน เป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่าสุกรที่ได้รับแบคทีเรีย

โปรไบโอติกมีระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงภายใน 3 สัปดาห์ และเมื่อหยุดให้ แบคทีเรียโปรไบโอติก 2 สัปดาห์ พบว่าระดับโคเลสเตอรอลในเลือดกลับเพิ่มขึ้นอีก

Zani และคณะ (1998) ศึกษาการผลิตและทดสอบโปรไบโอติกด้วยเชื้อ *B. cereus* (probiotic CenBiot) โดยการเพาะเลี้ยงในถังหมักแบบชั่วคราว (fed batch) เมื่อทำให้เซลล์แห้งแล้วจึงนำมาผสมกับข้าวโพด เพื่อใช้ศึกษาผลของโปรไบโอติกในการควบคุมโรคท้องร่วงในสุกร พบว่า probiotic CenBiot มีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับ furazalidone คือช่วยลดอาการท้องร่วงได้มากกว่ากลุ่มควบคุมประมาณครึ่งหนึ่ง นอกจากนี้เขายังได้ทำการเลี้ยงสุกรด้วยสูตรอาหารควบคุมและอาหารที่มีส่วนผสมของโปรไบโอติก 2 ชนิด คือ probiotic CenBiot และโปรไบโอติกเชิงการค้า พบว่าอาหารทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการใช้อาหารเท่ากับ 2.099, 1.904 และ 2.146 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาด้านการใช้สารอาหารจะพบว่า กลุ่มที่ได้รับ probiotic CenBiot มีการใช้สารอาหารน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกเชิงการค้า ร้อยละ 12.6 และน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้ควบคุมร้อยละ 10 เมื่อใช้ปริมาณสารอาหารเท่ากัน

Kypiakis และคณะ (1999) ศึกษาผลของโปรไบโอติก LSP 122 ในการควบคุมโรคท้องร่วงในลูกสุกรที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) โดยมีการทดสอบการเลี้ยงลูกสุกร 256 ตัวด้วยอาหารโปรไบโอติก LSP 122 (Alpharma) ที่ประกอบด้วยสปอร์ที่มีชีวิตของ *Bacillus licheniformis* แบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมไม่มีการให้ยาปฏิชีวนะและโปรไบโอติก กลุ่มที่ 2 ให้อาหารเสริมโปรไบโอติกที่มีสปอร์ของ *B. toyoi* (Toyocerin ®) 10^6 CFU/g ส่วนกลุ่มที่ 3 และ 4 ให้อาหารเสริมโปรไบโอติกที่มีสปอร์ของ *B. licheniformis* 10^6 และ 10^7 CFU/g ตามลำดับ ผลปรากฏว่าลูกสุกรทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกสามารถลดความรุนแรงของโรคท้องร่วงได้ และอัตราการตายของลูกสุกรที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติก ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนน้ำหนักของลูกสุกรที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกก็ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัดเจนและกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติก LSP 122 10^7 CFU/g ให้ผลดีสุดในการควบคุมโรคท้องร่วงในลูกสุกรที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

Jin และคณะ (2000) พบว่า *Enterococcus faecium* 18C23 สามารถยับยั้งการยึดเกาะของ *E. coli* K88 ที่เยื่อบุผิวของลำไส้เล็กของลูกสุกรได้ โดยสันนิษฐานว่า เกิดจากโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ *Enterococcus* สร้างขึ้น แล้วปลดปล่อยออกมาในส่วนของของเหลวของเซลล์เพาะเลี้ยง ทำให้โมเลกุลนี้ ขัดขวางการเข้าจับยึดของเชื้อ *E. coli* K 88

Hadani และคณะ (2002) ศึกษาการใช้โปรไบโอติก Probactrix ในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคท้องร่วงในลูกสุกร โดยเลี้ยงสุกรโดยให้อาหารเสริมโปรไบโอติก Probactrix 3 มิลลิลิตร ต่อตัว/วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้ adovocin และ gentamycin ในการควบคุมโรคท้องร่วง แล้วติดตามผล ปรากฏว่าในกลุ่มที่ได้รับ Probactrix อัตราการเกิดโรคท้องร่วงในสุกรลดลง 6.6 % และอัตรการตายลดลง 6.59 % เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และน้ำหนักสุกรในกลุ่มที่ได้รับ Probactrix ก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมด้วย

Carlos และคณะ (2002) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลกติกจากระบบทางเดินอาหารของสุกรจำนวน 100 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียง 6 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารอันได้แก่เชื้อ *Salmonella enteritidis, S. cholera suis, S. typhimurium* และ *Yersinia enterocolitica* หลังการบ่งชี้ชนิดพบว่า 4 สายพันธุ์เป็นเชื้อ *Enterococcus faecium* และอีก 2 สายพันธุ์เป็นเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

Haberer และคณะ (2003) ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อผสมของ *L. johnsonii* และ *L. reuteri* เป็นอาหารเสริมโปรไบโอติก เพื่อช่วยลดประสิทธิภาพของเอนไซม์ β - glucoronidase และ azoreductase ที่มีผลต่อการก่อมะเร็งในลูกสุกร โดยการให้อาหารเสริมแก่ลูกสุกรที่มีเชื้อผสมทั้งสองชนิดในปริมาณ 2 x 10^{12} CFU ต่อตัวต่อวัน แล้วติดตามผล 5 สัปดาห์ ปรากฏว่าประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ β - glucoronidase และ azoreductase ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 5 สัปดาห์ที่ให้อาหารเสริมโปรไบโอติก

Ohashi และคณะ (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียโปรไบโอติกของเชื้อ *L. casei* shirota (LCS) ในระบบทางเดินอาหารของสุกร โดยทำการทดลองให้นมที่มีเชื้อ *L. casei* shirota (LCS) 10^{10} CFU/g ปริมาณ 130 ml ในแต่ละมื้อ เป็นเวลา 8 วัน เก็บตัวอย่างมูลสุกรมาตรวจหาปริมาณเชื้อ LCS ทุก 2 ชม. เป็นเวลา 24 ชม. ปรากฏว่าพบปริมาณเชื้อ LCS ที่แยกกลับคืนมาในมูลสุกรอยู่ในช่วง $10^{4} - 10^{6}$ CFU/g และปริมาณสูงสุดของ LCS ที่แยกได้เท่ากับ 10^{6} CFU/g เป็นช่วง 6 ชั่วโมงหลังทำการทดลอง

Chih Tsai และคณะ (2005) ศึกษาความสามารถของ *Lactobacillus* ที่แยกจากสุกรและสัตว์ปีก จำนวน 31 และ 15 สายพันธุ์ ตามลำดับ พบว่า *Lactobacillus* 2 สายพันธุ์ คือ LAP 5 และ LF 33 ซึ่งแยกได้จากลำไส้สุกรและ สัตว์ปีกตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการและในสัตว์ทดลอง

Scharek และคณะ (2005) ศึกษาผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Enterococcus faecium* SF 68 ต่อระบบภูมิคุ้มกันของแม่และลูกสุกร พบว่าระดับ IgG ใน serum ของแม่สุกรไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ในลูกสุกรระดับ IgG ใน serum ทั้งสองกลุ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 7 – 28 วัน หลังจากนั้นระดับ IgG ในกลุ่มควบคุมเริ่มเพิ่มขึ้นอีกครั้ง แต่ในกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกไม่เพิ่มขึ้น นั่นคือระดับ IgG ในลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกต่ำกว่ากลุ่มควบคุม จนสิ้นสุดการทดลองวันที่ 56 ระดับ IgG ในลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และระดับ cytotoxic T cell ($CD8^{+}$) ของลูกสุกรกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญด้วย ซึ่งเป็นผลมาจากการกำจัดเชื้อ β -hemolytic *Escherichia coli* และ *Escherichia coli* serovars O141

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกและคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกจากมูลสุกรที่เหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมโปรไบโอติก

2. เพื่อศึกษาผลของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ β- hemolytic *E. coli* ที่แยกจากลูกสุกรท้องร่วง